

(1985) Pferdeheilkunde 1, 171—185

Akuter Entzündungsprozeß, Arachidonsäurestoffwechsel und die Wirkungsweise entzündungshemmender Medikamente

A. J. Higgins und P. Lees

Abteilung für Physiologie des Royal Veterinary College, North Mymms

Einleitung

Der positive Effekt des pathologischen Phänomens Entzündung ist lebensnotwendig. Es ist die Reaktion des Körpers auf eine Schädigung oder Verletzung. Es dient dazu, die Wirkung eines die Gesundheit bedrohenden Agens möglichst gering zu halten, indem es dies verdünnt, lokalisiert, unschädlich macht und, wenn möglich, entfernt. Es schafft also Mittel und Wege zur Reparation des Schadens und zur Wiederherstellung des Status quo. Die ursächlichen Noxen sind vielfältiger Art und schließen lebende Mikroorganismen (wie Bakterien und Viren), Ekto- und Endoparasiten und unbelebte Faktoren, die chemischer oder physikalischer Natur sein können, ein. Die Anzahl der in der Folge auftretenden Erkrankungen ist groß. Beispiele dafür, die der Kliniker täglich vor Augen hat, sind u. a. Rehe, Dermatitis, Enteritis, Tendinitis, Mastitis, Metritis, Pneumonie, Myositis, Bursitis, Podotrochlitid und zahllose andere Krankheiten, die alle durch das pathognomonische Suffix -itis gekennzeichnet sind.

Die Entzündung ist ein Vorgang, der durch die vier von *Celsus* etwa um 35 v. Chr. beschriebenen „Kardinalsymptome“ charakterisiert ist — rubor et tumor cum calore et dolore mit *Rudolf Virchow's* Zusatz der *functio laesa* aus dem 19. Jahrhundert. Diese fundamentalen Erscheinungen, Rötung, Schwellung, Wärme, Schmerz und Funktionsverlust, stellen die äußeren klinischen Anzeichen einer Aufeinanderfolge komplexer vaskulärer, immunologischer und zellulärer Reaktionen dar, an der viele chemische Entzündungsmediatoren beteiligt sind. Histamin, 5-Hydroxytryptamin sowie Kinin-, Komplement- und Gerinnungssystem gehören zu den vielen Faktoren, von denen schon lange bekannt ist, daß sie mit dem Entzündungsprozeß verknüpft sind. Die vergangenen ungefähr 15 Jahre haben eine deutliche Zunahme der Hinweise darauf erkennen lassen, daß eine andere Gruppe von Mediatoren, die Eikosane, ebenfalls von großer Bedeutung bei der Entzündung ist. Eikosane sind die Stoffwechselprodukte langkettiger mehrfach ungesättigter Fettsäuren wie der Arachidonsäure. Zu ihnen

Zusammenfassung

Arachidonsäure ist eine mehrfach ungesättigte Fettsäure, die in den meisten Körperzellen in Esterform kovalent gebunden ist. Auf eine Reizung oder Schädigung hin wird die Arachidonsäure freigesetzt und von Enzymsystemen oxidiert, was zur Bildung einer wichtigen Gruppe von Entzündungsmediatoren, den Eikosanen, führt. Man weiß heute, daß die Eikosananfreisetzung von grundlegender Bedeutung für den Entzündungsprozeß ist.

Zum Beispiel haben die Prostaglandine und andere Prostaglandine, Produkte des Stoffwechselwegs des Enzyms Zykllooxygenase, wirkungsvolle entzündungsfördernde Eigenschaften, und Prostaglandin E₂ ist leicht in akut entzündlichen Exsudaten beim Pferd festzustellen. Die Verabreichung steroidfreier antiphlogistischer Medikamente bewirkt eine Hemmung der Prostaglandinsynthese, und dies erklärt die Wirkungsweise von Stoffen in der Art von Phenylbutazon und Flunixin. Lipooxygenase-Enzyme wandeln Arachidonsäure in eine Gruppe azyklischer Eikosane, die Leukotriene, um, von denen einige ebenfalls wichtige Entzündungsmediatoren sind. Sie sind wahrscheinlich bei leukozytengesteuerten Erscheinungen chronischer Entzündungen von besonderer Bedeutung. Die Lipooxygenase-Aktivität vermindern die derzeit verfügbaren entzündungshemmenden Medikamente jedoch nicht. Im Licht heutiger Erkenntnisse wird der Entzündungsprozeß von neuem untersucht, und die wesentliche dabei zutage tretende Bedeutung der sowohl von der Zykllooxygenase als auch von der Lipooxygenase abgeleiteten Eikosane wird erforscht. Die Wirkungsweise der jetzt und in Zukunft dem Pferdepraktiker angebotenen Antiphlogistika kann aus ihrer Interferenz mit dem Arachidonsäuremetabolismus erklärt werden.

gehören sowohl die Zykllooxygenaseprodukte Prostaglandine, Thromboxane und Prostazyklin, wahrscheinlich alles Entzündungsmediatoren, als auch die über die Lipooxygenase produzierten Hydroxysäuren oder Leukotriene. Die Anzeichen häufen sich jetzt dafür, daß Leukotriene wichtige Mediatoren bei Hypersensibilitätsreaktionen und Leukotaxis sind.

Diese Arbeit befaßt sich mit den vaskulären und zellulären Aspekten des Entzündungsvorgangs, besonders bei der akuten Entzündung. Die Rolle der klassischen Entzündungsmediatoren wird nur kurz angesprochen, um desto gründlicher auf das Wesen der Eikosane und ihre Beteiligung an der entzündlichen Reaktion eingehen zu können. Über die Kontrollmechanismen der Entzündung wird ebenfalls ein Überblick gegeben; denn obwohl sie als Schutzmaßnahme in die Wege geleitet wird, führt sie nicht unbedingt zu einem Rückgang der Schädigungsfolgen. Überschießende Reaktionen des Organismus auf die Mediatorfreisetzung oder tatsächliche exzessive Ausschüttung von Mediatoren können äußerst ungünstige Konsequenzen für das Tier haben. Der Kliniker muß daher über geeignete Mittel zur Kontrolle der Reaktion verfügen. Die Wirkungsweise antientzündlicher Medikamente auf dem Wege selektiver Hemmung der Mediatorsynthese im Arachidonsäurestoffwechsel wird untersucht und eine zweckmäßige therapeutische Basisdosierung vorgeschlagen.

Der akute Entzündungsprozeß Gefäßreaktion

Die Entzündung ist definiert als lokale Antwort eines mit Gefäßen versorgten lebenden Gewebes auf eine Schädigung

(Robbins und Cotran, 1979). Sie stellt ein mikrozirkulatorisches Phänomen mit Anpassungsvorgängen der Blutversorgung in dem betroffenen Bereich dar. Die wahrscheinlich früheste Beschreibung der Reaktion stammt von Professor Julius Cohnheim aus dem Jahre 1882, der die Entdeckung machte, daß Veränderungen im Blutfluß zu einer Verletzungsstelle hin und in der Gefäßpermeabilität zu einer Ansammlung von Flüssigkeiten und Zellen am Ort der Schädigung führen, die man heute in ihrer Gesamtheit als entzündliches Exsudat bezeichnet. Ryan und Majno (1977) haben einen neueren und umfassenden Überblick über die Hauptvorgänge, die bei der akuten Entzündung ablaufen, gegeben, und dieser Artikel befaßt sich nun mit einigen mehr hervorstechenden Merkmalen der Gefäßreaktion auf die Schädigung hin.

Auf eine anfängliche kurze Konstriktion der Arteriolen folgt eine längere und lokal begrenzte Dilatation der Arteriolen, Venolen und Lymphgefäße, die eine Hyperämie des Kapillarnetzes in dem betroffenen Gebiet nach sich zieht. Die Rolle lokaler chemischer Mediatoren bei der Ingangsetzung dieser Blutflußveränderungen wird später untersucht; es sei aber erwähnt, daß auch das Zentralnervensystem zu einem gewissen Grad dabei Einfluß ausübt (Appenzeller und McAndrews, 1966). Kapilläre Hyperämie führt zum Blutstau, und die Blutbestandteile am Ort erhalten dadurch Gelegenheit, sowohl miteinander als auch mit dem Gefäßendothel in Wechselwirkung zu treten.

Exsudation erfordert nun aber eine Zunahme der Gefäßpermeabilität, und diese wird durch die Kontraktion der Endothelzellen herbeigeführt, wobei die darunter befindliche feste Basalmembran normalerweise intakt bleibt. Zwischen den Endothelzellen werden Gap-Junctions sichtbar, der Zelleib wölbt sich in das Gefäßlumen vor, der Zellkern rundet sich ab, und Kern- und Zellmembran werden faltig (Majno und Palade, 1961). Die Gefäßdurchlässigkeit kann zweierlei Ursachen haben, eine direkte in Form von Schädigung der Arteriolen, Venolen und Kapillaren durch die Noxe oder eine indirekte, den durch die freigesetzten chemischen Mediatoren hervorgerufenen Reiz, der hauptsächlich auf die Venolen wirkt (Majno, Palade und Schoeff, 1961). Die intakte Basalmembran funktioniert als Mikrofilter, indem sie Plasma und einige Proteinmoleküle passieren läßt, nicht aber zelluläre Blutbestandteile. Weiße Blutzellen müssen selbständig in einem aktiven Emigrationsvorgang durch die Gefäßwände permeieren (siehe nächster Abschnitt).

Das Exsudat im Entzündungsbereich kann aus großen Mengen proteinreicher Flüssigkeit bestehen, so daß sein spezifisches Gewicht im Gegensatz zu dem eines Transsudats oder dem von Ödemflüssigkeit annähernd so hoch wie dasjenige von Plasma ist (Smith und Jones, 1970). Man kann die Gefäßdurchlässigkeit zwar durch lokale Injektion von Histamin und verwandten Substanzen stimulieren (Hurley, 1972), es sind daran aber noch viele andere chemische Wirkstoffe beteiligt; sie können im Plasma gebildet oder aus den geschädigten Geweben selbst freigesetzt sein, und die Vielfalt und Art dieser Verbindungen soll in Einzelheiten besprochen werden.

Zellreaktion

Weil die Entzündung ein Schutz- und Abwehrmechanismus ist, muß sie dazu dienen, so schnell wie möglich Phagozyten und Antikörper an den Ort der Schädigung heranzuschaffen. Der Vasodilatation folgen unmittelbar die Zellmigration, Hyperämie und Zunahme der Gefäßpermeabilität. Die aus dem Blutstrom in die Gewebe hinein austretenden Plasmaproteine enthalten γ -Globuline oder humorale Antikörper und Fibrinogen, das ausgefällt als Fibrin wahrscheinlich die Oberflächenphagozytose steigert.

Die Phagozytose wurde schon 1905 von Metchnikoff als lebensnotwendiger Wirtsabwehrmechanismus erkannt. Die Funktionen der Phagozyten bei der akuten Entzündung bestehen darin, fremdes biologisches oder anderes partikuläres Material zu erkennen, anzugreifen, aufzunehmen und wegzuschaffen. Innerhalb von Minuten nach Eintritt der Schädigung werden polymorphkernige Leukozyten in den Blutgefäßen in der Nähe der Schadensstelle wandständig. In der Folge haften sie am Endothel und wandern durch die Wände der Venolen in die betroffenen Gewebe (Atherton und Born, 1972). Mit eintretender Dilatation der Kapillaren findet eine Migration polymorphkerniger Leukozyten in größerer Zahl statt. Der polymorphkernige Leukozyt ist die charakteristische Zelle der Entzündung (Harkness, 1981). Er dominiert in den frühen Stadien der Entzündung, hat aber nur eine kurze Lebensdauer und kann sich nicht vermehren. Nach 24 Stunden nimmt die Zahl der mononukleären Zellen zu, und während des Abklingens oder Übergangs zur chronischen Krankheit werden die Makrophagen zum vorherrschenden Zelltyp.

Der Mechanismus der Chemotaxis polymorphkerniger Leukozyten ist noch nicht ganz genau bekannt (Gallin, Gallin und Schiffman, 1979). Die Haftung polymorphkerniger Leukozyten am Venolenendothel ist von der Anwesenheit bivalenter Metallionen wie Kalzium abhängig (Thompson, Papadimitriou und Walters, 1967; Atherton und Born, 1972), und die Wanderung durch die Gefäßwand geht vonstatten, wenn der polymorphkernige Leukozyt so knapp zwischen den Endothelzellen hindurchpaßt, daß nicht gleichzeitig Flüssigkeit austritt (Hurley, 1972). Die Leukozyten bewegen sich chemisch gesteuert zu geschädigten Körperstellen hin. Viele chemotaktische Wirkstoffe wurden identifiziert und werden später beschrieben. Eine wichtige Stoffgruppe ist das Komplementsystem. Die Bedeutung eines solchen dem Serum entstammenden Mechanismus bei der Chemotaxis stellte erstmals Boyden (1962) in klarer Form mit Hilfe der Kammer heraus, die nun seinen Namen trägt. Hurley (1963) bewies, daß Serum, das durch Inkubation mit mazerierten Gewebsextrakten aktiviert wurde, chemotaktisch auf polymorphkernige Leukozyten wirkt. Diese chemotaktischen Substanzen entstanden durch eine Wechselwirkung zwischen dem verletzten Gewebe und Serums substraten, von denen jetzt bekannt ist, daß das C3- und C5-Fragment des Serumkomplements dazugehört (Ward, 1974).

Endogene Mediatoren, die einige oder alle von Vanes Kriterien erfüllen, entstammen sowohl dem Plasma als auch dem geschädigten Gewebe. Gewöhnlich liegen sie in ihrer

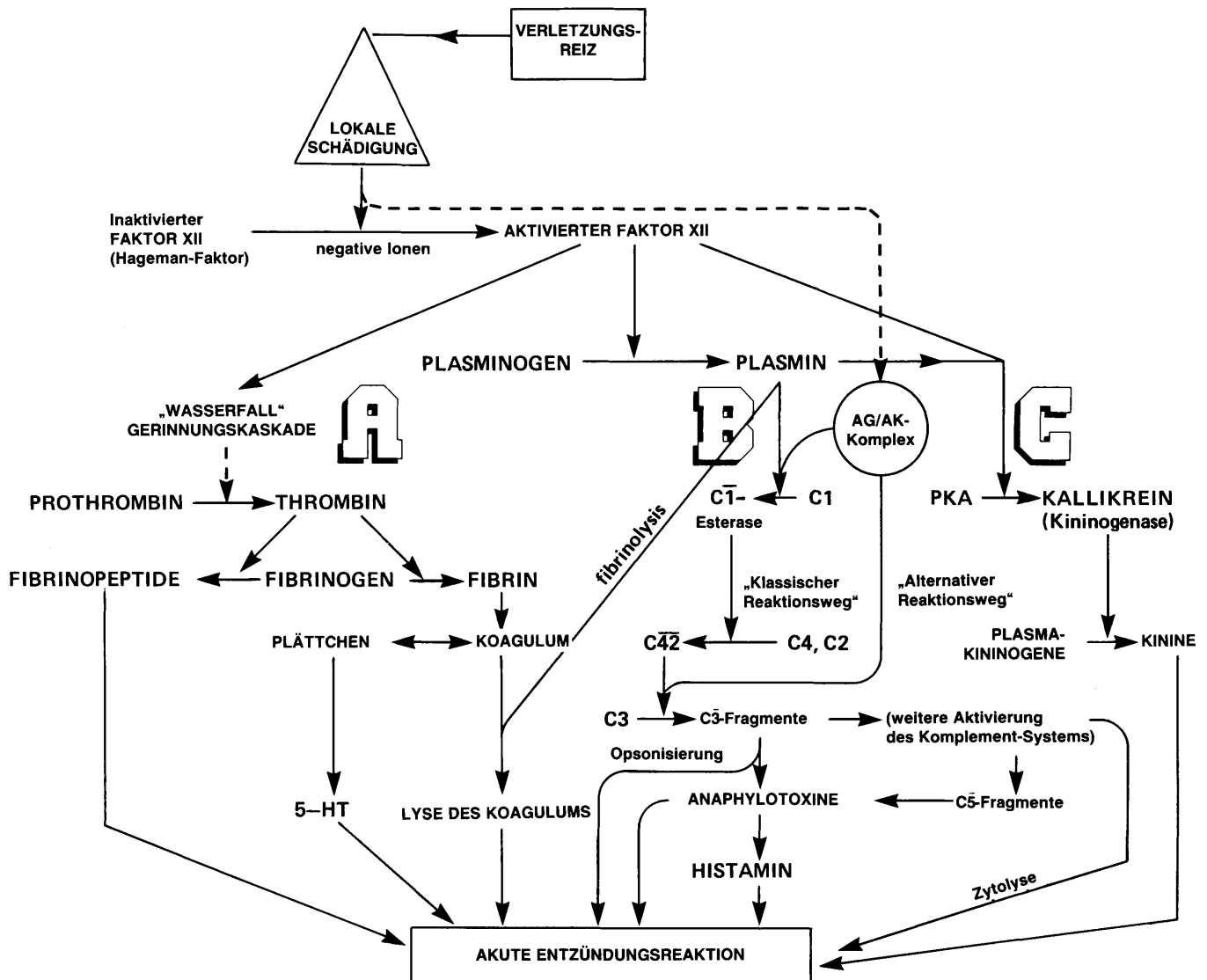


Abb. 1: Vereinfachte graphische Darstellung der dem Plasma entstammenden Hauptmediatoren, in der die Wechselbeziehungen zwischen Gerinnungs- (A), Komplement- (B) und Kininsystem (C) beim akuten Entzündungsprozess sichtbar werden. Einzelheiten siehe Text.

inaktiven Form vor, die durch die Verletzung aktiviert wird, und stehen häufig in Wechselwirkung mit anderen Mediatorsystemen (Abb. 1). Die Zahl und Wirksamkeit chemischer Entzündungsmediatoren reicht aus, um sicherzustellen, daß der Organismus mit Hilfe des einen oder anderen Mechanismus rationell, wirksam und rasch geschützt wird. Kinin-, Komplement- und Gerinnungssystem stellen die Hauptmediatoren aus dem Plasma dar, während zu der aus Zellen freigesetzten Gruppe gefäßaktive Amine wie Histamin, 5-Hydroxytryptamin, Proteasen, Lymphozytenprodukte, lysosomale Esterasen und die wichtigen Produkte des Arachidonsäuremetabolismus, die Eikosane, gehören.

Di Rosa, Giroud und Willoughby (1971) erstellten die These, die Entzündungsmediatoren würden in geordneter Reihenfolge freigesetzt. Histamin und 5-Hydroxytryptamin würden, so postulierten sie, in den ersten 90 Minuten nach der Schädigung synthetisiert, gefolgt von Bradykinin bis zu 2,5 Stunden danach und einer daraufhin eintretenden Zu-

nahme der Prostaglandinproduktion, die 24 Stunden anhalten kann. Tatsächlich wurde jedoch später offenkundig, daß die Bradykininwirkung bis zu 6 Stunden andauert (Ferreira, Moncada, Parsons und Vane, 1974), und Willis (1969) zeigte, daß die Histaminfreisetzung biphasisch mit einer zweiten Spitze um die 24. Stunde ist. Es werden nun einige Mediatorsysteme betrachtet, über die mehr Klarheit besteht. Die große Bedeutung der Arachidonsäurederivate rechtfertigt dagegen ihre detaillierte Behandlung in einem besonderen Abschnitt dieser Besprechung.

Das Kininsystem

Plasmakinine sind Peptide, die unter Einwirkung der Proteasen Kallikrein oder Kininogenase aus Plasmakininogen entstehen (Wilhelm, 1971). Das Nonapeptid Bradykinin (Rocha e Silva, Beraldo und Rosenfeld, 1949) hat eine starke vasodilatatorische Wirkung und führt zu einer rapiden Er-

höhung der Permeabilität kleiner Blutgefäße, zu Ödem und Schmerz. Die Schmerzeffekte des Bradykinins werden durch Prostaglandin E₂ hochgradig verstärkt (*Moncada, Ferreira und Vane, 1974*).

Die Kininfreisetzung ist ein komplexer Prozeß (Abb. 1), der mit der Aktivierung des Hageman-Faktors (des traditionellen Faktors XII des Gerinnungssystems) beginnt. Sobald dieser Faktor aktiviert ist, setzt er die Gerinnungskaskade sowie die Produktion von Plasmin aus Plasminogen in der fibrinolytischen und der Komplementkaskade und von dem Prekallikrein-Aktivator in Gang (*Chochrane, Revak und Wuepper, 1973*). Der Prekallikrein-Aktivator aktiviert dann seinerseits Prekallikrein dazu, Kininogenase zu bilden (*Wuepper und Chochrane, 1972*), welche die Kinine entstehen läßt. Peptidasen (Kininasen) bauen die Kinine in der Folge rasch ab (*Wilhelm, 1971*).

Die vielleicht wichtigsten in den vergangenen Jahren entdeckten chemotaktischen Wirkstoffe sind die Hydroxyeicosatetraensäuren (HETEs), die aus der Arachidonsäure entstehen (Abb. 7) (*Hamberg und Samuelsson, 1974; Nugteren, 1975*). 5-HETE wirkt stark chemotaktisch auf polymorphkernige Leukozyten des Menschen (*Palmer, Stepney, Higgs und Eakins, 1980*), und 12-HETE ist chemotaktisch wirksam gegenüber polymorphkernigen Leukozyten des Kaninchenperitoneums und Eosinophilen (*Goetzl und Gorman, 1978*). In neuerer Zeit hat sich Leukotrien B₄ (5,12-DHETE), ein Produkt des Lipoxygenase-Stoffwechselwegs der Arachidonsäure (Abb. 7), als hochaktives leukotaktisches Agens erwiesen und stellt vielleicht einen lokalen Kontrollmechanismus über die Leukozytenakkumulation am Entzündungsort dar (*Higgs, Palmer, Eakins und Moncada, 1981*).

Es ist seit längerem bekannt, daß sich auf der Zelloberfläche bestimmter Bakterien spezifische Chemorezeptoren befinden (*Adler, 1969*), und ihre Aktivierung kann Chemotaxis von Leukozyten auslösen. Auch auf polymorphkernigen Leukozyten hat man besondere Rezeptorstellen für die Komplementkomponente C5a (*Chenoweth und Hugli, 1978*) und gewisse chemotaktische Peptide (*Aswanikumar et al., 1977*) nachgewiesen. *Becker (1979)* überprüfte die Tatsachen, die für das Vorhandensein eines einzigen multifunktionellen Rezeptors auf polymorphkernigen Leukozyten sprechen. Die Opsonierung der Partikel hat Bedeutung für die Beschleunigung der Phagozytose. Dabei kann die Hülle entweder aus Immunglobulinen oder aus C3-Fragmenten des in Gang gesetzten Komplementsystems bestehen (*Müller-Eberhard, 1975*). Nach der Phagozytose geht die Masse der polymorphkernigen Leukozyten zugrunde und löst sich auf. Lysosomale Enzyme, die aus ihren eigenen zyttoplasmatischen Vesikeln frei geworden sind, verarbeiten ihren Inhalt weiter. In geschädigten Geweben befindet sich daher eine große Menge toter und sterbender Zellen, und die entstandene Flüssigkeit, der Eiter, enthält eine Vielzahl den Leukozyten entstammender Enzyme. Diese Enzyme können selbst chemotaktisch auf weiße Blutzellen wirken. Ebenso sind sie fähig, andere polymorphkernige Leukozyten oder benachbarte intakte Gewebe aufzulösen. Unter Umständen bildet sich ein Abszeß, oder es entwickelt sich möglicherweise ein toxischer Zustand. Die zel-

lulären Vorgänge der Entzündung sind in verschiedenen Standardwerken (z. B. *Zweifach, Grant und McCluskey, 1974*) umfassend beschrieben. Innerhalb von 24 Stunden nach Beginn der Schädigung sind die Makrophagen in weitem Maß mobilisiert. Sie zirkulieren normalerweise als Monozyten (mononukleäre Phagozyten) im Blut, von wo aus sie in der Folge einer Verletzung migrieren und größer werden. Sie stürzen sich auf großpartikuläres Material und nehmen es auf, und bei chronischen Entzündungsreaktionen sind sie stets anwesend. Mehrere Makrophagen können sich zu einer Riesenzelle vereinigen (makrophagischer Polykaryont). Wenn der Organismus gegenüber einem Antigen sensibilisiert ist, aktivieren immunspezifische T-Lymphozyten rasch die Makrophagen, die dann in einer wiederholten Auseinandersetzung mit dem als zellgebundene Immunität bekannten Vorgang reagieren (*Bellanti, 1978*). Allgemein sind sowohl T- als auch B-Lymphozyten einige Tage nach Beginn der Alteration vorhanden. Außerdem treten antikörperproduzierende und -speichernde Plasmazellen ebenso wie Eosinophile, Basophile und, mit dem Einsetzen einer chronischen Reaktion, Fibroblasten auf.

Chemische Entzündungsmediatoren

Entzündungsmediatoren sind für alle Teilvorgänge der Entzündung einschließlich ihrer Kardinalsymptome verantwortlich. Diese biologisch aktiven Substanzen sind von großer Zahl und unterschiedlicher Struktur. Sie bewirken Vasodilatation, erhöhte Gefäßpermeabilität, Exsudation, Schmerz, Leukotaxis und oft auch den Funktionsverlust im Entzündungsgebiet. Den ersten Beweis für die Existenz von Mediatoren lieferte *Lewis (1927)*, indem er zeigte, daß die lokale Freisetzung einer chemischen Substanz die vasculären Veränderungen verursacht, die zur klassischen „Dreifachreaktion“ in Form von Hofbildung, Erythem und Quaddelentstehung führen. 1972 stellte *Vane* die These auf, daß eine Anzahl von Kriterien erfüllt sein sollte, wenn eine Verbindung als Entzündungsmediator bezeichnet werden kann. Sie sollte am Entzündungsort nachweisbar vorhanden sein, jedoch nicht, wenn die Reaktion abklingt; sie sollte eines oder mehrere Kardinalsymptome der Entzündung hervorrufen, wenn sie in gesunde Gewebe gebracht wird; ihre Antagonisten sollten entzündungshemmend wirken; die entzündliche Reaktion in Geweben sollte sich nach Entfernung der Substanz oder Synthesehemmung abschwächen; und Verabreichung von Inaktivierungsantagonisten der Substanz sollte die Reizwirkungen verstärken.

Das Komplementsystem

Die Kinine stehen in komplexer Weise in Verbindung mit der Kaskade des Gerinnungssystems und Komplementsystems, die durch die Synthese verschiedener biologisch aktiver Substanzen bei der Entzündung eine entscheidende Rolle spielt.

Das Komplementsystem besteht aus einer Gruppe selbstaggregierender Plasmaproteine, die den Hauptmediator von Antigen-Antikörperreaktionen bildet (*Whaley und Fer-*

guson, 1981). Es sind mindestens 18 Proteine beteiligt, die von vier Zelltypen einschließlich der Makrophagen synthetisiert werden (Colten, 1976). Die Komponenten werden in Gruppen eingeteilt und nach ihrer Wirksamkeit benannt. Die klassischen Stoffwechselproteine und der „Membran-Angriff-Komplex“, der die komplementgesteuerte Zytolyse verursacht, tragen die Nummern C1-9.

Für eine verständliche Besprechung der Komplementaktivierung sollte man die detaillierten Arbeiten von Whaley und Ferguson (1981) zur Erklärung heranziehen, aber wir wollen das System auf die unbedingt erforderlichen Grundzüge, die Abb. 1 zeigt, vereinfachen. Die Komponente C1, die aus einzelnen Serumbestandteilen zusammengesetzt und in sich durch Ca-Ionen verbunden ist (Naff, Pensky und Lepow, 1964), wird von Antigen-Antikörper-Komplexen, Plasmin und bestimmten nicht-immunologischen Wirkstoffen aktiviert. Es bildet sich eine C1-Esterase, die wiederum auf die C4- und C2-Komponente wirkt und einen C42-Komplex, C3-Konvertase genannt, schafft. Dieses Enzym spaltet C3- in C3-Fragmente (Ratnoff und Naff, 1967). Im Gegensatz dazu kann der Immunkomplex C3 direkt aktivieren, indem er es in seine Fragmente spaltet (Ruddy, 1974), was als „alternativer Aktivierungsweg“ bekannt ist (Whaley und Ferguson, 1981).

C3 ist nicht nur für die weitere Aktivierung des Systems erforderlich, sondern wirkt auch opsonierend, und die Bindung von C3-Fragmenten an Zellen erleichtert die Phagozytose. Die C3-Fragmente aktivieren dann einen C567-Komplex, der einen chemotaktischen Effekt auf Leukozyten hat (Ward, Chochrane und Müller-Eberhard, 1966). Die Spaltung von C3 oder C5 führt zu Peptidfragmenten mit Anaphylatoxin-Wirksamkeit, deren Effektivität beim C5a-Fragment sehr viel stärker ausgeprägt ist als beim C3a-Fragment (Johnson, Hugli und Müller-Eberhard, 1975). Anaphylatoxine sind ebenfalls wichtige Entzündungsmediatoren. Sie rufen Degranulation von Mastzellen und Basophilen hervor, was das Freiwerden von Histamin zur Folge hat (Sell, 1972). Dies verursacht erhöhte Gefäßpermeabilität. Auch eine Kontraktion der glatten Muskulatur lösen Anaphylatoxine direkt und nicht durch ihre histaminfreisetzende Aktivität aus (Whaley und Ferguson, 1981). Besonders interessant war die Entdeckung, daß in vitro und auch unter imitierten In-vivo-Bedingungen C5a, nicht aber C3a chemotaktisch auf polymorphkernige Leukozyten wirkt (Fernandez, Henson, Otani und Hugli, 1978).

Die Zytolyse-Effekte der Komplementaktivierung treten ein, wenn die C567-Stufe zu C8 und C9 gebunden ist. Der entstandene Komplex führt zur Zellyse wahrscheinlich, indem er sich selbst in die Zellmembran einbaut und einen Kanal bildet, der Wasser und Elektrolyte passieren läßt. Dies hat Osmolyse und den Tod der Zelle zur Folge (Kinoshita, Inoue, Okada und Akiyama, 1977).

Das Gerinnungssystem

Die Wechselwirkung des Gerinnungssystems mit dem Kinin- und Komplementsystem kompliziert noch die Situation. Wenn durch Kontakt von Plasma mit negativ gelad-

nen Oberflächen oder Ionen (das kann in vitro Glas sein, in vivo das ubiquitäre Kollagen, Basalmembranen, Knorpel, Trypsin, Kallikrein oder Plasmin) der Hageman-Faktor aktiviert wird, kommt unter Umständen nicht nur das Kininsystem in Gang, sondern er initiiert auch den Ablauf anderer biologischer Prozesse einschließlich der Plasmin-, Komplement- und Blutgerinnungsreaktionskette (Slausen, 1976). Bei der Blutgerinnung wird Prothrombin zu Thrombin, das seinerseits den Ausschlag zur Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin gibt (Abb. 1). Außerdem spalten sich unter Einwirkung von Thrombin Fibrinopeptide von den Fibrinogenmolekülen ab (Laki, 1968). Diese Peptide sind von Bedeutung für die lokale Entzündungsreaktion wegen ihres Vermögens, die Effekte des Bradykinins zu potenzieren (Copley, Hanig, Luchini und Allen, 1966) und wegen ihrer leukotaktischen Wirkung auf polymorphkernige Leukozyten (Stecher und Sorkin, 1972).

Der aktivierte Faktor XII stimuliert wie gesagt die Synthese von Plasmin aus Plasminogen. Plasmin induziert dann die Fibrinolyse und läßt auch das Komplement- und Kininsystem anlaufen. Auf diese Weise kommt eine Reihe hochkomplexer und untereinander in Wechselwirkung stehender Reaktionen in Gang, immunologische und nicht-immunologische. Eben sie führen zur Gerinnung des Bluts, Auflösung des Blutgerinnsels (Fibrinolyse), Zellyse (Komplement) und vielen vaskulären und zellulären Bestandteilen der akut entzündlichen Reaktion.

Gefäßaktive Amine

Histamine

Dieses einfache Amin (4-[2-Aminoethyl]Imidazol) entsteht durch Decarboxylierung aus der Aminosäure Histidin (Abb. 2); Windaus und Vogt (1907) synthetisierten es erstmals, und es kommt in starker Verbreitung über den ganzen Körper verteilt vor, in den Granula von Mastzellen und Basophilen, in Blutplättchen, Nervengewebe, Lungen, Haut, Darmmukosa und in der Regio parietalis des Magens (Levy, 1974). Histamin wird auf Reize vieler Art hin, seien es physikalische, chemische, pharmakologische oder immunologische, leicht aus seinen Granula freigesetzt (Uvnäs, 1969; Bellanti, 1978). Mastzellen treten am zahlreichsten

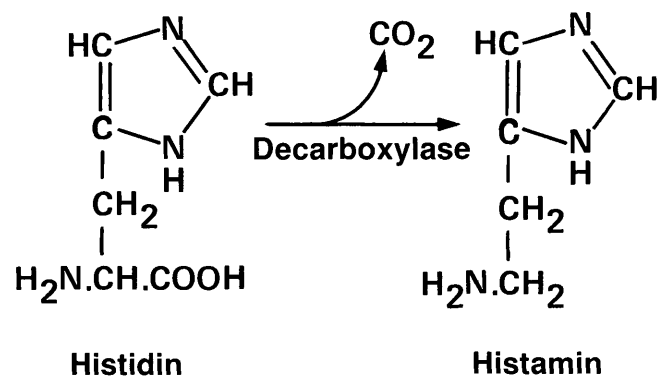
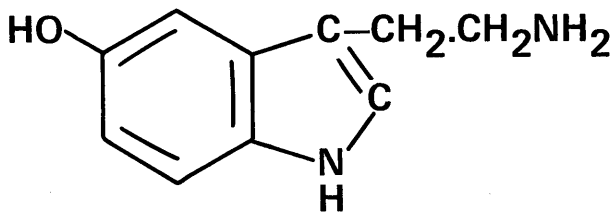


Abb. 2: Decarboxylierung der Aminosäure Histidin zum gefäßaktiven Amin Histamin.



5-Hydroxytryptamin (5-HT)

Abb. 3: Die Beteiligung von 5-Hydroxytryptamin als Entzündungsmediator ist noch ungewiß.

um kleine Blutgefäße herum im Bindegewebe auf, wo sich eine Entzündung entwickeln kann (Levy, 1974). Die entzündliche Wirkung des Histamins hat vasodilatatorischen Charakter mit erhöhter Gefäßpermeabilität, ist aber nur von kurzer Dauer, da es rasch zu inaktiven Derivaten abgebaut wird. 1918 beschrieben Dale und Richards die vasodilatatorische Aktivität. Bovey und Staub (1937) entwickelten die ersten spezifischen Antihistamine, und ihre experimentelle Anwendung zeigte, daß noch andere Mediatoren zusätzlich zum Histamin am Entzündungsvorgang beteiligt sind. Clark, Gallin und Kaplan (1975) berichteten, daß Histamin chemotaktisch auf Eosinophile wirkt. Der Effekt des Histamins auf die Gefäßpermeabilität wird durch Zyklooxygenaseprodukte des Arachidonsäure-Metabolismus noch verstärkt, was zu gesteigerter Exsudation führt (Williams und Morley, 1973).

5-Hydroxytryptamin

5-Hydroxytryptamin ist ein Indolalkylamin, dessen Synthese aus der Nahrungsaminosäure Tryptophan durch Hydroxylierung erfolgt und das in Mastzellen, Blutplättchen, Gehirn und Mukosa des Magen-Darm-Trakts von Ratten gespeichert wird (Levy, 1974). Esparmer (1954) isolierte und identifizierte die Verbindung, und sie wurde als mutmaßlicher Entzündungsmediator angesehen, bis Rowley und Benditt (1956) herausfanden, daß Mikrogramm-Mengen der Substanz in den Pfoten von Ratten sofort ein Ödem verursachen. Heute ist bekannt, daß 5-Hydroxytryptamin die Gefäßpermeabilität erhöht (Udenfriend und Waalkes, 1959). Möglicherweise ist es bei bestimmten Tierarten ein wichtiger Mediator der akuten Entzündung, aber die Beweise dafür, daß es eine solche Rolle spielt, sind bisher nicht schlüssig.

Arachidonsäurestoffwechsel

Die Oxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren wie der Arachidonsäure durch Zyklooxygenase- und Lipoxygenase-Enzymsysteme führt zur Bildung verschiedener, sehr wichtiger Mediatoren des Entzündungsprozesses, zu denen die Prostaglandine, die Thromboxane, das Prostazyklin (Samuelsson et al., 1978) und die Leukotriene (Samuelsson, Hammarström, Murphy und Borgeat, 1980) gehören. Diese Verbindungen, bekannt unter dem Sammelbegriff Eikosa-

ne, haben eine lebenswichtige Funktion bei der Auslösung und Aufrechterhaltung verschiedener Teile des Entzündungsvorgangs inne. Ihre Wirkung kann eine direkte oder auch eine indirekte zusammen mit anderen Mediatoren wie den gefäßaktiven Aminen und Bradykinin sein. Sie können auch chemotaktisch eine Rolle spielen und dann die Leukozytenakkumulation am Ort der lokalen Schädigung steigern. Für den Kliniker von größter Bedeutung ist das Wissen darum, daß Hemmung der Enzyme des Arachidonsäurestoffwechsels die Freisetzung dieser Mediatoren verhindert, und dies erklärt die Wirksamkeit klinisch wichtiger entzündungshemmender Medikamente.

Fettsäuren

1935 prägte Professor Ulf von Euler, der am Karolinska-Institut in Stockholm arbeitete, den Namen „Prostaglandin“ als Bezeichnung für pharmakologisch wirksame Verbindungen, die aus menschlichem Sperma isoliert worden waren. Er selbst (von Euler, 1935 a, b; 1936) und Goldblatt (1933, 1935) in England beschrieben sie unabhängig voneinander. Zu dieser Zeit glaubte man, diese Substanzen entstünden in der Prostata, und gab ihnen diesen Namen, der seither beibehalten wurde, obwohl man weiß, daß jede Körperzelle mit Ausnahme des Erythrozyten Prostaglandine synthetisieren kann (Flower, 1974).

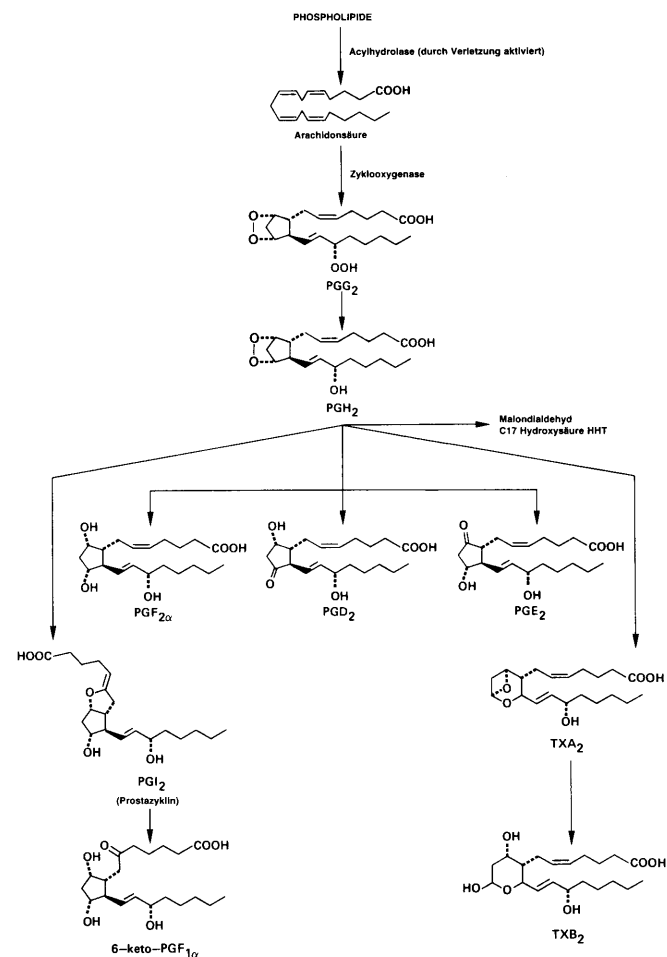


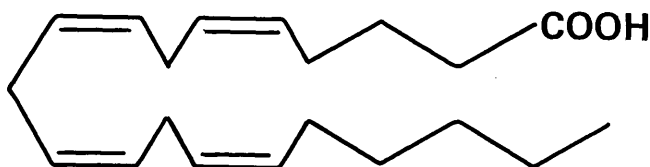
Abb. 4: Zyklooxygenase-Stoffwechselweg des Arachidonsäuremetabolismus.

Bergström und Sjövall (1960 a, b) identifizierten Prostaglandin E (konnte mit „Ether“ extrahiert werden) und Prostaglandin F (konnte mit „Fosphat“ extrahiert werden) als Fettsäuren, was zur Aufklärung ihrer Struktur, mehrfach ungesättigte zyklische Fettsäuren aus 20 Kohlenstoffatomen mit Zyklpentanring (Bergström, Rhyage, Samuelsson und Sjövall, 1963; van Dorp, Beerthuis, Nugteren und Vonckenman, 1964), führte. 1967 erstellte van Dorp die These, die Prostaglandine seien in vivo Fettsäurederivate, und zeigte, daß ein Enzym in der Mikrosomenfraktion von Samenblasen beim Bullen mehrfach ungesättigte 20C-Fettsäuren in Prostaglandine umwandelt. Bei diesem Enzym, der „Prostaglandin-Synthetase“, handelt es sich, wie man jetzt weiß, um einen Multienzymkomplex, als Zyklooxygenase bekannt, der den Oxidationsvorgang der Fettsäuren zu Prostaglandin katalysiert (Flower, 1974). Man hat die chemischen Eigenschaften von mehr als 20 natürlich vorkommenden Prostaglandinen bestimmt.

Der Zyklooxygenase-Stoffwechselweg

Abb. 4 zeigt den klassischen Weg des Zyklooxygenase-Metabolismus. Um die Schritte bei der Bildung und Hemmung der Eikosane in ihrer Bedeutung richtig einzuschätzen, muß man kurz auf die einfachen biochemischen Vorgänge bei ihrer Synthese eingehen. Die C-Atome der Fettsäuren werden gegen den Uhrzeigersinn nummeriert, beginnend mit dem C-Atom der COOH-Gruppe, so daß die Arachidonsäure die Bezeichnung 5, 8, 11, 14-Eikosatetraensäure erhält (Abb. 5). Die Zahlen geben die Positionen der vier Doppelbindungen an. Prostaglandine werden nach der Anzahl der Doppelbindungen in der Seitenkette eingeteilt. Die Prostaglandine G₁, G₂ und G₃ sind zum Beispiel ursprünglich Derivate von Fettsäuren mit 3, 4 oder 5 Doppelbindungen (5, 8, 11, 14-Eikosatetraensäure; Arachidonsäure bzw. 5, 8, 11, 14, 17-Pentensäure) (Nelson, 1974).

ARACHIDONSÄURE



5, 8, 11, 14-Eikosatetraensäure

Abb. 5: Arachidonsäure.

Bei der Prostaglandinsynthese läuft eine zweifache Oxidation unter der Einwirkung eines Dioxygenaseenzyms ab. So lagert sich ein Sauerstoffmolekül am C15-Atom an und läßt ein Peroxid entstehen. Das zweite Sauerstoffmolekül wird zwischen C9 und C11 gebunden, wodurch sich ein Endoperoxid bildet, und eine in der Lücke zwischen C8 und C12 gelegte Brücke führt zu einem Zyklpentanring. Wenn das Substrat die Arachidonsäure ist, resultiert als

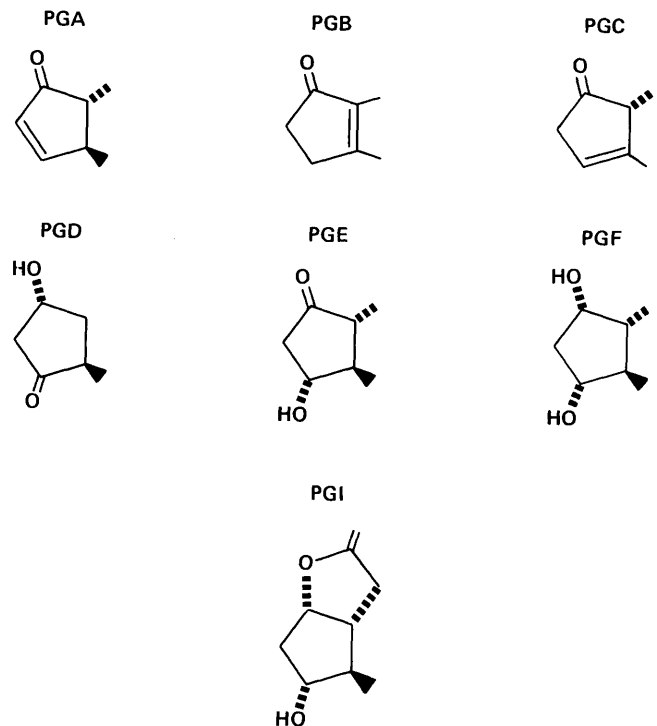


Abb. 6: Substitutionen am Zyklpentanring der Prostaglandinstruktur lassen die einzelnen Prostaglandinarten (PG) entstehen.

15-Hydroperoxy-Verbindung das Endoperoxid Prostaglandin G₂, das man als „Mutter“-Prostaglandin bezeichnen kann (Ramwell, Foegh, Loeb und Leovey, 1980). Die unterschiedlichen Substitutionen am Zyklpentanring formen die Prostaglandinarten. So führen Hydroxylgruppen am C9 und C11 zum Prostaglandin F. Eine Ketogruppe am C9 zusammen mit einer Hydroxylgruppe am C11 ergibt Prostaglandin E. Auf diese Weise werden aus dem „Mutter“-Prostaglandin G das Prostaglandin H und die „Tochter“-Prostaglandine A, B, C, D, E, F und I (Abb. 6). Ein Index in Form griechischer Buchstaben gibt lediglich Auskunft über die stereochemischen Verhältnisse (Nelson, 1974).

Prostazyklin (Prostaglandin I₂) ist ein bicyklisches Prostaglandin (Abb. 4). Die Thromboxane (A₂ und B₂) sind Endoperoxid-Derivate, die jeweils einen Oxanring aus 6 C-Atomen anstelle des Zyklpentanrings besitzen und daher strenggenommen keine Prostaglandine sind. Anderen Endoperoxidprodukten wie dem Malondialdehyd und der C17-Hydroxysäure HHT (Abb. 4) schreibt man nur geringe biologische Wirksamkeit zu (Ramwell et al., 1980).

Prostaglandine haben in vivo kurze Halbwertszeiten ($t_{1/2}$), und einige von den wirksameren unter ihnen sind sehr instabil. In wässriger Lösung beträgt die $t_{1/2}$ von Thromboxan A₂ bei pH 7,5 und 37° C 32 Sekunden und diejenige von Prostaglandin I₂ 4 Minuten (Salmon und Flower, 1979). Thromboxan A₂ wird zu Thromboxan B₂ (Hamberg, Svensson und Samuelsson, 1975) und Prostaglandin I₂ zu 6-Ketoprostaglandin F_{1α} (Johnson et al., 1976) abgebaut, die stabiler und relativ inaktiv sind. Als Indikatoren für das Vorhandensein ihrer Vorläufer sind diese Derivate jedoch vorteilhaft in Exsudaten bestimmbar (Higgs und Salmon, 1979).

Auch nur eine leichte mechanische oder chemische Reizung von Geweben führt zur Biosynthese von Prostaglandinen (Ferreira und Vane, 1967), da sie nicht im Körper gespeichert werden. Ein Vorläufer wie die Arachidonsäure kann aus der Nahrung stammen oder aus Linolensäure über verschiedene Zwischenstufen aufgebaut werden. Der größte Teil der Arachidonsäure ist in Esterform kovalent in Phospholipiden gebunden, die zum Beispiel in Zellmembranen vorkommen. Eine Acylhydrolase wie z. B. die Phospholipase A₂ setzt die Arachidonsäure auf eine Schädigung oder Verletzung hin frei (Flower und Blackwell, 1976), und außer, daß Ca-Ionen beteiligt sind, weiß man bisher wenig über die Wirkungsweise dieser hydrolytischen Enzyme (Ramwell et al., 1980). Die Arachidonsäure wird, sobald sie freigesetzt ist, sofort von Lipoxygenase- und Zyklooxygenasen enzymen metabolisiert. Unsere Kenntnisse darüber, was die Freisetzung spezifischer Zyklooxygenaseprodukte an besonderen Stellen lenkt, sind jedoch begrenzt.

Willis (1969) wies als erster das Vorkommen von Prostaglandin E₂ in carrageenin-induziertem entzündlichem Exsudat von Ratten nach, und diese Entdeckungen konnten andere bestätigen (Velo et al., 1973; Higgs, Harvey, Ferreira und Vane, 1976; Higgs und Salmon, 1979). In neuerer Zeit zeigten Higgs, Moncada, Salmon und Seager (1983), daß auch Thromboxan B₂ und 6-Ketoprostaglandin F_{1α} im akut entzündlichen Exsudat von Ratten vorhanden sind, aber Prostaglandin E₂ herrscht noch vor.

In unserem eigenen Labor lieferten wir mit Hilfe einer Bioassay-Methode (Higgins und Lees, 1984 a) erstmals den Beweis, daß im carrageenin-induzierten akut entzündlichen Exsudat beim Pferd eine prostaglandin-E₂-ähnliche Wirkung besteht (Higgins, Lees und Higgs, 1984). Mit Hilfe eines Gewebekäfigmodells zum Erhalt von carrageenin-induziertem akut entzündlichem Exsudat bei Ponys (Higgins, Lees und Wright, 1984) und weiterhin durch Implantation carrageenin-imprägnierter Schwämme unter die Haut bei Ponys konnten wir dann mit dem Radioimmunoassay die Anwesenheit nicht nur von Prostaglandin E₂, sondern auch von Nanogramm-Mengen Thromboxan B₂ und 6-Ketoprostaglandin F_{1α} in diesen Exsudaten zeigen (Higgins und Lees, 1984 b). Über Mediatoren, die von der Arachidonsäure abstammen, auch in chronisch geschädigten Gelenken von Pferden, hier jedoch nur Gehalte im Pikogrammbe- reich (Tamanini, Seren, Pezzoli und Guidetti, 1980), und beim Menschen (Brodie, Hensby, Parke und Gordon, 1980) wurde berichtet.

Anfangs ist höchstwahrscheinlich das geschädigte Gewebe selbst die Quelle des entzündlichen Prostaglandins. Das Hauptprodukt der Zyklooxygenase in den Blutplättchen ist Thromboxan A₂ (Hamberg et al., 1975), das in vivo selbst Thrombozytenaggregation hervorruft und als Vaso- konstriktor vielleicht auch Kontrolle über die Blutung an der Stelle der lokalen Schädigung ausübt. Prostaglandin I₂ ist das Hauptprodukt des Endothels der Blutgefäße, wo es die Plättchenaggregation hemmt (Moncada, Gryglewski, Bunting und Vane, 1976). Thromboxan A₂ und Prostaglan- din I₂ können beide von Makrophagen (Humes et al., 1977) und von Granulationsgewebe (Chang, Murota und Tsurufu-

ji, 1976) produziert werden. In neuerer Zeit stellte sich her- aus, daß wandernde Leukozyten in akut entzündlichen Ex- sudaten bei der Ratte ebenfalls eine Hauptquelle von Thromboxan A₂ und Prostaglandinen sind (Higgs et al., 1983). Bei der Entzündung haben die Prostaglandine I₂ und E₂ eine verlängerte vasodilatatorische Wirkung (Williams, 1979), die ein Erythem verursacht. Sie potenzieren die durch Histamin und Bradykinin erhöhte Gefäßpermeabili- tät und führen so zu vermehrter Ödembildung (Williams und Morley, 1973). Zusätzlich verstärken die E-Prostaglan- dine die schmerzauslösenden Effekte von Bradykinin (Mon- cada et al., 1974). Diese und andere Berichte (Higgs et al., 1981) liefern schlüssige Beweise für das Vermögen der Pro- dukte des Zyklooxygenase-Stoffwechselwegs des Arachi- donsäuremetabolismus, durch direkte und indirekte Ein- wirkung die Kardinalsymptome akuter Entzündung her- vorzurufen.

Lipoxygenase-Stoffwechsel

Wenn Acylhydrolasen Arachidonsäure aus den Phospholi- pid-„Pools“ des Körpers freisetzen, kommt nicht nur das Zyklooxygenasesystem in Gang, sondern die Arachidon- säure wird ebenso rasch von Lipoxygenase-Enzymen meta- bolisiert (Abb. 7). Diese Reaktionen führen zur Bildung von Hydroperoxysäuren und eventuell zu Hydroxysäuren oder den Leukotrienen.

Die Lipoxygenase-Aktivität wurde erstmals in Thrombo- zyten nachgewiesen (Hamberg und Samuelsson, 1974; Nug-

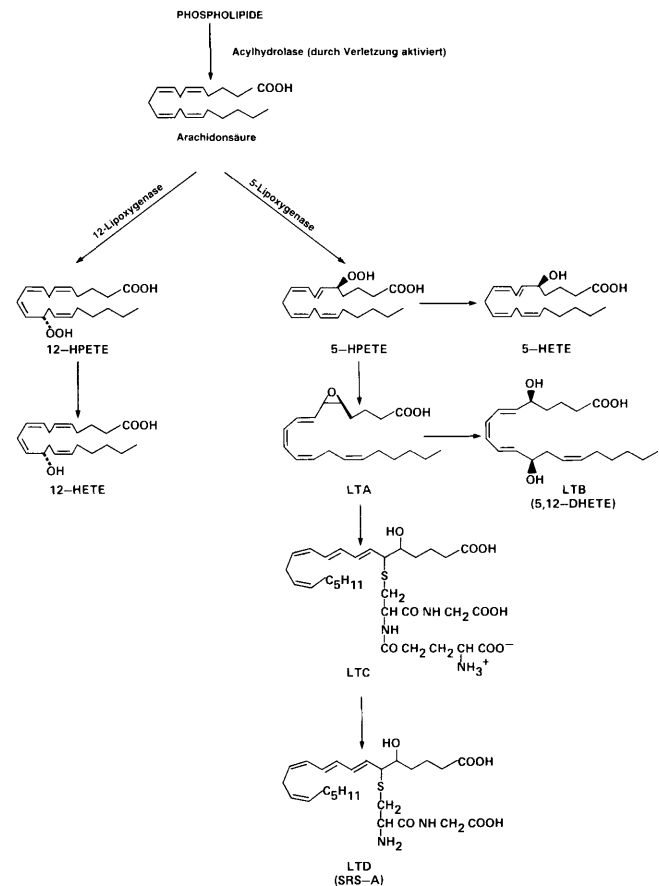


Abb. 7: Lipoxygenase-Enzym-Stoffwechselweg des Arachidonsäure- metabolismus.

teren, 1975). Dann entdeckten *Borgeat, Hamberg* und *Samuelsson* (1976) Lipoxygenase in Leukozyten, die, wie man zeigte, die Hydroperoxysäure 5-HPETE synthetisieren. Diese kann entweder in 5-HETE oder ein 5,6-Epoxid der Arachidonsäure, als Leukotrien A bezeichnet, umgewandelt werden (*Murphy, Hammarström* und *Samuelsson*, 1979). Wie Abb. 7 zeigt, kann Leukotrien A im folgenden zu Leukotrien B hydrolysiert oder in komplexeren enzymatischen Reaktionen zu C, D und E umgewandelt werden (*Samuelsson et al.*, 1980). Leukotrien D oder eine Mischung von Leukotrienen betrachtet man derzeit als SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis), einen wichtigen Mediator der asthmatischen Bronchokonstriktion beim Menschen (*Morris, Taylor, Piper* und *Tippins*, 1980). Es laufen viele Forschungsarbeiten daran, die Rolle der Leukotriene bei pathophysiologischen Prozessen zu bestimmen. Neben der vermutlichen Verbindung zum Asthma hat man Lipoxygenase-Produkte bei Psoriasis (*Hammarström et al.*, 1975), Rheuma und Spondylarthritis (*Klickstein, Shapleigh* und *Goetzl*, 1980) gefunden.

12-HETE wirkt chemotaktisch auf polymorphkernige Leukozyten (*Turner, Tainer* und *Lynn*, 1975), und diese Leukotaxis kann, wie man unten sehen wird, mit Hilfe eines Lipoxygenase-Hemmers verhindert werden (*Higgs, Flower* und *Vane*, 1979). Die Lipoxygenasen in Leukozyten lassen Leukotrien B₄ entstehen (*Samuelsson et al.*, 1980), ebenfalls eine hochwirksame chemotaktische Verbindung (*Ford-Hutchinson et al.*, 1980). Hinzu kommt ein Bericht über Leukotrien B₄, wonach dieses gleich wirksam wie die Prostaglandine E₂ und I₂ bei der Potenzierung bradykinin-induzierter Plasmaexsudation in der Kaninchenhaut ist (*Eakins et al.*, 1980), obwohl es keinen vasodilatatorischen Effekt hat (*Bray, Cunningham, Ford-Hutchinson* und *Smith*, 1981). *Higgs et al.* (1981) bestätigten diesen Befund und lieferten außerdem den Beweis für eine direkte Wirkung von Leukotrien B₄ auf die Gefäßpermeabilität und eine Verstärkung der Leukozytenakkumulation in vivo. Diese Autoren postulierten, zwischen Leukozytenakkumulation und Gefäßpermeabilität bestehe eine Verbindung, was als Hilfe zur Erklärung der Tatsache herangezogen werden könnte, daß, zumindest bei der Ratte, die Ödemreduktion enger mit der Leukozytenanhäufung als mit der Hemmung der Prostaglandinsynthese in Zusammenhang steht (*Higgs et al.*, 1980).

Wirkungsweise antiphlogistischer Medikamente

Die vorausgehend dargestellten Tatsachen weisen darauf hin, daß Eikosane bei Entzündungsprozessen starke Effekte haben und wichtige Rollen spielen. Zu Wirkungen solcher Art, die man den Produkten des Arachidonsäuremetabolismus zuschreiben kann, zählen Vasodilatation, erhöhte Gefäßpermeabilität, Leukotaxis, Schmerz, Bronchokonstriktion und Thrombozytenaggregation. Prostaglandin E₁ ist außerdem ein wirkungsvoller pyretischer Stoff (*Feldberg* und *Saxena* 1971 a, b). Diese Eikosanverbindungen dienen dazu, dem Organismus bei der Überwindung einer Schädigung zu helfen. Wenn der Körper aber im Übermaß Eiko-

sane produziert oder sie in nicht angemessener Menge freisetzt, kann ein biologischer Abwehrmechanismus in einen pathologischen Prozeß umschlagen oder in einigen Fällen wie beim Endotoxinschock sogar lebensbedrohlich werden. Der Kliniker muß die Möglichkeit haben, die überschießende oder mengenmäßig nicht im Verhältnis zur Ursache stehende Eikosanproduktion niederzuhalten. Es ist nicht verwunderlich, daß für zykllooxygenasehemmende steroidfreie Antiphlogistika (NSAIDs = non-steroidal anti-inflammatory drugs) die Fehlbezeichnung „Anti-Prostaglandin“ aufgekommen ist. Sie lassen sich nun mit einer Ausnahme vier Arten von Hemmstoffen im Arachidonsäuremetabolismus zuordnen, die jetzt einer näheren Betrachtung unterzogen werden sollen, nämlich die Zykllooxygenase-Hemmer, die Lipoxygenase-Hemmer, die Nebennierenrindensteroidoide und die neue Gruppe der steroidfreien zweifach wirksamen Zykllooxygenase- und Lipoxygenase-Hemmer, die zu den Antiphlogistika der Zukunft werden könnten.

Zykllooxygenase-Hemmer

1971 fanden *Sir John Vane* und seine Mitarbeiter am Institute of Basic Medical Sciences of the Royal College of Surgeons of England heraus, daß die Wirkung von Aspirin und anderen NSAIDs in der Hemmung der Biosynthese und folglich der Freisetzung aller Prostaglandine besteht (*Ferreira, Moncada* und *Vane*, 1971; *Smith* und *Willis*, 1971; *Vane*, 1971). Die Entdeckung der unterdrückten oder aufgehobenen Prostaglandinproduktion bei unbeeinflusster Freisetzung von Phospholipiden ließ darauf schließen, daß die NSAIDs effektiv nicht die Synthese des Substrats Arachidonsäure blockieren, sondern ihre Umwandlung in Prostaglandine verhindern (*Smith* und *Willis*, 1971). Daher schlug *Vane* (1976) die Zykllooxygenase-Hemmung als gemeinsamen Nenner für alle therapeutischen Wirkungen und Nebenwirkungen der NSAIDs vor.

Gegenwärtig kommen die NSAIDs Phenylbutazon, Flunixin, Naproxen und Meclofensäure am häufigsten in der Pferdeheilkunde zur Anwendung. Alle diese Verbindungen führen zum Rückgang von Erythem, Ödem, Fieber und Schmerz im Zusammenhang mit der akut entzündlichen Reaktion. Diese NSAIDs üben ihre therapeutische Wirkung aus, indem sie die Synthese der Zykllooxygenase-Produkte der Arachidonsäure hemmen. Da Prostaglandine aber auch die Effekte anderer Mediatoren wie Histamin und Bradykinin potenzieren, vermindert die Hemmung ihrer Produktion auch die entzündlichen Wirkungen dieser Mediatoren.

Polymorphkernige Leukozyten sind heute als eine Hauptquelle von Arachidonsäuremetaboliten bei frühen Reaktionen der akuten Entzündung bekannt (*Higgs et al.*, 1983). In Modellversuchen akuter Entzündung bei Ratten unterdrückten niedrige Dosen von Indomethacin, Aspirin und Flurbiprofen (alles in der Humanmedizin häufig verordnete NSAIDs) die Prostaglandinsynthese und steigerten die Migration polymorphkerniger Leukozyten. Hohe Dosen hemmten andererseits die Migration polymorphkerniger Leukozyten (*Higgs et al.*, 1980). Man zog daraus den Schluß, daß eine Blockierung des Zykllooxygenase-Stoff-

% Hemmung

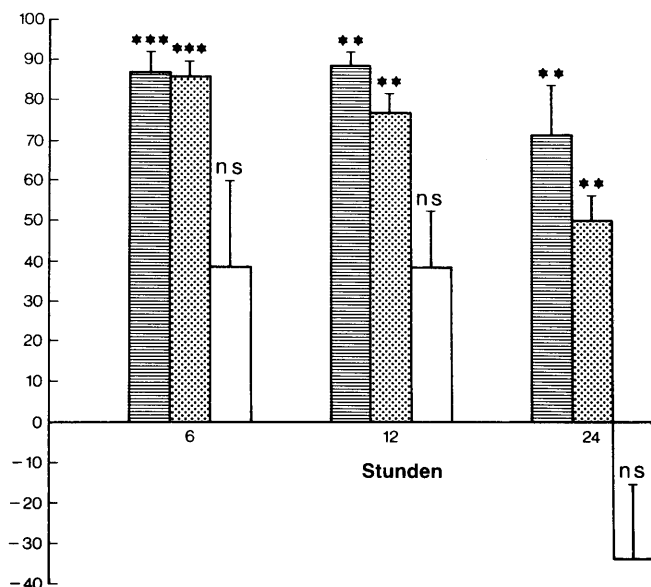


Abb. 8: Einfluß der Verabreichung einer intravenösen Einzeldosis Phenylbutazon (4,4 mg/kg Körpergewicht) an Ponys auf die Eikosanspiegel in carrageenin-induzierten akut entzündlichen Exsudaten (nach Higgins, Taylor und Lees, 1984) [®]Prostaglandin E₂; [⊗]6-Ketoprostaglandin F_{1α}; [⊙]Thromboxan B₂; ***P<0,001; **P<0,01; ns: nicht signifikant.

wechsels mit niedrigen NSAID-Dosen mehr Arachidonsäuresubstrat für den gehemmten Lipoxygenase-Stoffwechsel verfügbar werden läßt, der chemotaktische Substanzen produziert. Die Wirkung höherer NSAID-Dosen wurde mit einer unspezifischen Hemmung der Arachidonsäureperoxidation erklärt.

Higgins, Lees und Taylor (1984) untersuchten den Einfluß einer intravenös applizierten Einzeldosis von 4,4 mg/kg Körpergewicht Phenylbutazon auf die Konzentrationen von Prostaglandin E₂, Thromboxan B₂ und 6-Ketoprostaglandin F_{1α} in carrageenin-induziertem Entzündungsexsudat, das von Ponys gewonnen worden war. Wie Abb. 8 zeigt, waren die Prostaglandin-E₂-Spiegel nach 6 bzw. 12 Stunden um 87 bzw. 89 Prozent vermindert. Selbst nach 24 Stunden bestand noch eine 71prozentige Hemmung. Diese Befunde stimmten mit früheren Berichten über Arbeiten überein, in welchen die Aktivität prostaglandinähnlicher Substanzen vielleicht überrascht. Die Erklärung kann teilweise beim Phenylbutazon liegen (Higgins und Lees, 1983). In ähnlicher Weise waren die Prostaglandin-F_{1α}-Konzentrationen nach 6, 12 und 24 Stunden um 86, 77 und 50 Prozent vermindert. Man berichtete auch über leicht gesenkte Thromboxan-B₂-Spiegel, aber die Veränderungen waren nicht statistisch relevant. Da Phenylbutazon bei Ponys eine ziemlich kurze Eliminationshalbwertszeit von 4,7 Stunden hat (Lees, Maitho, Millar und Taylor, 1982), mag die verlängerte Hemmung der Zyklooxygenase-Aktivität überraschen. Dies könnte seine Erklärung in dem Sachverhalt haben, daß die Exsudatkonzentrationen von Phenylbutazon und seinem aktiven Metaboliten, Oxyphenbutazon, nach 12 und 24 Stunden höher liegen als die gleichzeitig gemessenen Plasmakonzentrationen, möglicherweise, weil das saure NSAID die Tendenz hat, sich an Stellen mit niedrigem

pH anzureichern, wie sie an Entzündungsorten vorliegen (Snow, 1983).

Die Anwendung von NSAIDs hat jedoch unter Umständen gewisse Nachteile. Nach oraler oder parenteraler Verabreichung können verschiedene Nebenwirkungen auftreten, u. a. Reizungen und Ulkusbildung im Magen-Darm-Trakt. Main und Whittle (1975) erstellten die These, die Applikation von NSAIDs hemme die physiologische vasodilatatorische Wirkung der Prostaglandine in der Magenmukosa. Dies führt zu Bereichen lokaler Ischämie und zur Entstehung von Nekrosen und Ulzera, die durch die nachfolgende Hypoxie und vermehrte Salzsäureproduktion noch verstärkt werden kann. Prostazyklin hat sich als Hauptprodukt der Magenmukosa bei vielen Spezies erwiesen (Moncada, Salmon, Vane und Whittle, 1977). NSAIDs beeinflussen auch die Niere in negativer Weise; Phenylbutazon verursacht beispielsweise die Retention von Kochsalz und Wasser, indem es die natriumsekretorischen Effekte der Prostaglandine in den Nierentubuli hemmt (McGiff et al., 1970).

Neuere Untersuchungen haben die Kenntnisse über die Toxizität von Phenylbutazon beim Pferd erweitert. Unter hohen Phenylbutazon Dosen (8,1 bis 14,6 mg/kg/Tag) starben drei Shetlandponys in einer Gruppe von acht Tieren innerhalb von 14 Tagen nach Beginn der Behandlung (Snow, Bogan, Douglas und Thompson, 1979). Vor dem Tod trat eine Hypoproteinämie auf, und in einer Folgestudie zeigte man, daß die Ursache dieser Mangellage eine Gastroenteropathie war, die zu dem Proteinverlust führte (Snow et al., 1981). Bei der Sektion traten Ulzerationen nicht, wie man vielleicht erwartet hätte, im Magen und Dünndarm, sondern hauptsächlich im Zäkum und Kolon zutage. Dieses interessante Phänomen hängt möglicherweise mit der Adsorption von Phenylbutazon an die Rohfaser oder unter Umständen auch an andere Nahrungsbestandteile und damit zusammen, daß das gebundene Medikament erst zum Zeitpunkt der Fermentation in den kaudalen Teilen des Darmtrakts freigesetzt wird (Lees et al., 1982).

Lees et al. (1983) konnten bei der Feststellung der Phenylbutazonwirkungen bei großen Pferderassen durchweg Hypoproteinämie nachweisen, und bei einem einzigen Tier bestanden Anzeichen für einen hepatotoxischen Effekt. Weil die verabreichten Phenylbutazon Dosen bei dieser Untersuchung niedriger als die von Snow und seinen Mitarbeitern (persönliche Mitteilung) applizierten waren, ging man davon aus, daß keine Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber der Toxizität von Phenylbutazon zwischen einzelnen Rassen oder, genauer gesagt, zwischen Ponys und Pferden bestehen. Als wichtigerer Faktor muß wahrscheinlich die Dosierung betrachtet werden. Wie bei allen Medikamenten mit niedriger, kleinster therapeutischer Dosis ist auch bei Phenylbutazon die genaue Einhaltung der vom Hersteller angegebenen Dosierung dringend anzuraten, ebenso bei anderen in der Pferdeheilkunde häufig verordneten NSAIDs.

Unveröffentlichte Arbeiten unseres Labors haben ergeben, daß Ponys in therapeutischen Dosen oral verabreichte Meclofensäure in gleicher Weise zu mäßiger bis starker

Herabsetzung der Plasmaproteinkonzentration führt. Daten für andere NSAIDs wie Naproxen und Flunixin stehen noch nicht zur Verfügung, aber im Hinblick darauf, daß sie denselben Wirkungsmechanismus haben, erweisen sie sich wahrscheinlich als ähnlich in ihren Nebenwirkungen. Vielleicht ist es ein Zufall, daß die NSAID-induzierte Hypoproteinämie gewöhnlich nur von kurzer Dauer ist, und ihre klinische Bedeutung ist, wenn sie nicht durch andere Nebenwirkungen kompliziert wird, vermutlich zweifelhaft. Die Nephrotoxizität wurde dagegen mit mehreren NSAIDs demonstriert, und dieser Aspekt ist zusammen mit den verschiedenen Formen der Blutdyskrasie wahrscheinlich klinisch mehr relevant. Betrachtungen zu den Beweisen der Nebenwirkungen und der Toxizität der NSAIDs wurden bei anderer Gelegenheit angestellt (Lees und Higgins, 1984).

Lipoxygenase-Hemmer

Spezifische Lipoxygenase-Hemmer werden klinisch nicht angewandt, obwohl sich die Anzeichen dafür mehren, daß die Lipoxygenase-Produkte des Arachidonsäurestoffwechsels offenbar als Entzündungsmediatoren eine Rolle spielen. Im carrageenin-induzierten akut entzündlichen Exsudat bei Ratten entdeckte man Leukotrien B₄ (Simmons, Salmon und Moncada, 1983), und die Synthese von leukotaktisch wirkenden Lipoxygenase-Verbindungen scheint zur Leukozytenakkumulation und erhöhten Gefäßpermeabilität beizutragen. Die Hinweise auf Beteiligung der Leukotriene als wichtige Mediatoren der Gefäßpermeabilität, der Leukozytenaktivierung und der allergischen Bronchokonstriktion wurden besprochen (Bray, 1983; Piper, 1983; Williams, 1983), aber man wird noch viel Forschungsarbeit zu leisten haben, bis ihre Funktion bei der entzündlichen Reaktion eindeutig bestimmt ist.

Kortikosteroide

Dem Kliniker stehen in der Veterinärmedizin eine Reihe entzündungshemmender Kortikosteroide zur Verfügung. Dazu gehören Betamethason, Dexamethason, Prednisolon, Flumethason und Isoflupredon. Die Indikationen für die Anwendung dieser Verbindungen sind vielfältig; sie werden zur Unterdrückung von durch Infektion, Trauma, Allergie oder andere Faktoren verursachten entzündlichen Reaktionen oft verordnet.

Allgemein haben Kortikosteroide einen breiteren pharmakologischen Wirkungsbereich als steroidfreie Antiphlogistika wie Flunixin oder Phenylbutazon, weil sie nicht nur die für die akute Entzündung charakteristischen vaskulären und zellulären Reaktionen, sondern auch die proliferativen, den chronischen Entzündungsprozeß selbstunterhaltenden und schädigenden Erscheinungen niederhalten. Die Effekte der Steroide bei der Entzündung an den Gefäßen kommen durch Vasokonstriktion (Zweifach, Shorr und Black, 1953) und durch die Verhinderung einer erhöhten Gefäßpermeabilität (Tsurufuji, Sugio, Takemasa und Yoshizawa, 1980) zustande. Die zellulären Wirkungen sind das Ergebnis einer gehemmten Auswanderung polymorphkerniger Leukozyten sowie einer gehemmten Emigration und Funktion phagozytierender Monozyten (Skidmore, 1981).

Der Makrophage ist charakteristisch und notwendig für das Fortbestehen der chronischen Entzündung. Zusätzlich zu seinen phagozytotischen Aktivitäten kann er auch verschiedene Entzündungsenzyme und -mediatoren, darunter Prostaglandine (Bonney et al., 1978) und Leukotriene (Rouzer et al., 1980) ebenso wie Lysozym (Gordon, Todd und Cohn, 1974) und lysosomale Hydrolasen (Schlorlemmer et al., 1977) produzieren und abgeben. Entzündungshemmende Steroide üben wahrscheinlich einen Einfluß aus, indem sie eine Monozytopenie herbeiführen und diese Produkte daraufhin in vermindertem Umfang freigesetzt werden. Polymorphkernige Leukozyten synthetisieren ebenfalls Prostaglandine (McCall und Youlten, 1973) und Leukotrien B (Samuelsson et al., 1980), und Steroide hemmen auch die Akkumulation dieser Zellen. Beim Menschen kommt es manchmal zu einer vorübergehenden Lymphozytopenie, aber die immunsuppressiven Wirkungen der Kortikosteroide haben ihre Ursache vermutlich in der niedergehaltenen Zahl polymorphkerniger Leukozyten und makrophagischer Effektorzellen (Skidmore, 1981).

Viele der mit den Forschungsarbeiten befaßten Wissenschaftler haben nachgewiesen, daß Steroide die Prostaglandinsynthese in verschiedenen Geweben wie der Rattenhaut (Greaves und McDonald-Gibson, 1972), im Fettpolster beim Kaninchen (Lewis und Piper, 1975), in damit benetzten Lungen von Meerschweinchen (Gryglewski et al., 1975) und in Makrophagen (Glatt, Kalin, Wagner und Brune, 1977) hemmen. Gryglewski et al. (1975) zogen den Schluß, daß Steroide hindernd auf die Freisetzung von Arachidonsäure aus ihrer Esterform im Phospholipidpool einwirken. Flower und Blackwell (1979) erstellten daraufhin die These, sie würden in Form der Hemmung des die Arachidonsäure freisetzenden Enzyms Phospholipase A aktiv. Die verminderte Arachidonsäurefreisetzung aus ihrer kovalent gebundenen Form wird von Glukokortikoidmolekülen gesteuert, die die Rezeptorstellen besetzen (Russo-Marie und Duval, 1980). Die Hemmung beider Stoffwechselwege der Arachidonsäure bedeutet, daß Steroide nicht nur die Synthese von Prostaglandinen und Thromboxanen blockieren, indem sie die Zyklooxygenase-Aktivität abschwächen, sondern auch die leukotaktischen und leukozytengesteuerten Wirkungen der Produkte der Lipoxygenase. Higgs und Salmon (1979) zeigten, daß Dexamethason in akut entzündlichen Exsudaten gleichermaßen wirksam bei der Verringerung der Prostaglandin-Konzentrationen wie der Herabsetzung der Leukozytenzahl war. Dieses zweifache Eingreifen erklärt wahrscheinlich die weiterreichenden antiphlogistischen Effekte der Steroide im Vergleich zu den NSAIDs unter manchen klinischen Verhältnissen.

Der Nachteil der Anwendung von Nebennierenrindensteroiden zur Kontrolle der Entzündung liegt in ihren toxischen Nebenwirkungen. Im großen und ganzen schätzt der Kliniker, daß die Applikation von Kortikosteroiden die Sekretion von Kortikotropin senkt, und dies kann, über längere Zeit fortgesetzt, zur Nebennierenrindenatrophie führen. Plötzlicher Entzug des exogenen Steroids hat dann unter Umständen eine akute Nebennierenrindeninsuffizienz zur Folge. Zu den übrigen Nebenwirkungen zählen Wasser- und Elektrolytretention, Stoffwechselstörungen und

Infektionsanfälligkeit durch Immunsuppression. Man hat jahrelang Versuche unternommen, durch Veränderungen am Steroidmolekül die entzündungshemmenden Effekte zu verstärken und die schweren Nebenwirkungen abzuschwächen oder zu beseitigen. Bisher waren in diesem Bereich nur begrenzt Erfolge zu verzeichnen.

Steroidfreie zweifache Zyklooxygenase- und Lipoxygenase-Hemmer

Das Pyrazolin-Analog von Phenidon (3-amino-1-m-[trifluoromethyl]Phenylpyrazolin), BW755C (Wellcome Research Laboratories, Beckenham), hemmt den Stoffwechsel beider Enzyme, der Zyklooxygenase und der Lipoxygenase, und besitzt antiphlogistische Eigenschaften ähnlich denen von Dexamethason. BW755C verstärkt nicht die Leukozytenmigration, setzt aber die Prostaglandinkonzentrationen und die von ihnen gesteuerten Reaktionen in Entzündungsexsudaten herab (Higgs et al., 1980).

Es stehen noch viele Forschungsarbeiten über zweifache Hemmstoffe („Steroide ohne Tränen“) aus, die vervollständigt werden müssen, bevor ihr wahrer Wert eingeschätzt werden kann. Die Vorzüge eines entzündungshemmenden Medikaments, das nicht die selbstunterhaltenden Wirkungen prostaglandinproduzierender Leukozyten potenziert, liegen auf der Hand, besonders bei chronischen Entzündungen. Wenn es gelingt, zweifache Hemmstoffe als wirksame Blocker beider Stoffwechselwege der Arachidonsäure ohne die Nebeneffekte der NSAIDs oder der Kortikosteroide zu entwickeln, können sie von enormer Bedeutung für die Behandlung einer Fülle von Zustandsformen der Entzündung in der Human- und Tiermedizin sein.

Schlußbetrachtungen

NSAIDs leisten gute Dienste bei der symptomatischen Behandlung, indem sie die Synthese der unter Zyklooxygenasewirkung produzierten Entzündungsmediatoren hemmen. Sie besitzen jedoch eine Reihe unerwünschter Nebenwirkungen, darunter Reizung des Magen-Darm-Trakts. Kortikosteroide blockieren zusätzlich den Lipoxygenase-Stoffwechsel der Arachidonsäure und unterdrücken damit das Auftreten der mehr chronischen leukozytengesteuerten Erscheinungen der Entzündung. Aber die potentielle Toxizität der Nebennierenrindensteroiden beschränkt ihren klinischen Nutzen, insbesondere, wenn sie über längere Zeiträume zur Kontrolle chronischer Entzündungsprozesse eingesetzt werden. Vielleicht weisen die neuen zweifachen Zyklooxygenase- und Lipoxygenase-Hemmer die Vorzüge der Kortikosteroide ohne ihre Nebenwirkungen auf.

Schlußwort

Wir erwähnen dankbar die Unterstützung des Horserace Betting Levy Board. Unser Dank gilt außerdem Dr. Harry Richards für seine konstruktiven Beiträge und Christine Kent für die gewandte Form, in der sie das Manuskript aufgesetzt hat.

Literatur

- Adler, J. (1969): Chemoreceptors in bacteria: studies of chemotaxis reveal systems that detect attractants independently of their metabolism. *Science* 166, 1588—1597.
- Appenzeller, O., und McAndrews, E. J. (1966): The influence of the central nervous system on the triple response of Lewis. *J. nerv. ment. Dis.* 143, 190—194.
- Aswanikumar, S., Corcoran, B., Schiffman, E., Day, A. R., Freer, R. F., Showell, J. H., Becker, E. L., und Pert, C. B. (1977): Demonstration of a receptor on rabbit neutrophils for chemotactic peptides. *Biochem Biophys. Res. Comm.* 74, 810—817.
- Atberston, A., und Born, G. V. R. (1972): Quantitative investigations of the adhesiveness of circulating polymorphonuclear leucocytes to blood vessel walls. *J. Physiol., Lond.* 222, 447—474.
- Becker, E. L. (1979): A multifunctional receptor on the neutrophil for synthetic chemotactic oligopeptides. *J. Retic. End. Soc. Suppl.* 26, 701—709.
- Bellanti, J. A. (1978): *Immunology II*. W. B. Saunders Co, Philadelphia.
- Bergström, S., Rhyage, R., Samuelsson, B., und Sjövall, J. (1963): Prostaglandins and related factors. 15. The structures of prostaglandin E₁, F_{1 α} , and F_{1 β} . *J. biol. Chem.* 238, 3555—3564.
- Bergström, S., und Sjövall, J. (1960 a): The isolation of prostaglandin F from sheep prostate glands. *Acta chem. scand.* 14, 1693—1701.
- Bergström, S., und Sjövall, J. (1960 b): The isolation of prostaglandin E from sheep prostate glands. *Acta chem. scand.* 14, 1701—1702.
- Bonney, R. J., Wightman, P. D., Davies, P., Sadowski, S. J., Kuehl, F. A., und Humes, J. L. (1978): Regulation of prostaglandin synthesis and of the selective release of lysosomal hydrolases by mouse peritoneal macrophages. *Biochem. J.* 176, 433—442.
- Borgeat, P., Hamberg, M., und Samuelsson, B. (1976): Transformation of arachidonic acid and dihomo- γ -linolenic acid by polymorphonuclear leucocytes. *J. biol. Chem.* 251, 7816—7820.
- Bovet, D., und Staub, A. M. (1937): Action protectrice des ethers phenoliques au cours de l'intoxication histaminique. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 124, 457—549.
- Boyden, S. (1962): The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. *J. exp. Med.* 115, 453—466.
- Bray, M. A. (1983): The pharmacology and pathophysiology of leukotriene B₄. *Br. Med. Bull.* 39, 249—254.
- Bray, M. A., Cunningham, F. M., Ford-Hutchinson, A. W., und Smith, M. J. H. (1981): Leukotriene B₄: a mediator of vascular permeability. *Br. J. Pharmacol.* 72, 483—486.
- Brodie, M. J., Hensby, C. N., Parke, A., und Gordon, D. (1980): Is prostacyclin the major pro-inflammatory prostanoid in joint fluid? *Life Sci.* 27, 603—608.
- Chang, W. C., Murota, S.-I., und Tsurufuji, S. (1977): Thromboxane B₂ transformed from arachidonic acid in carrageenin-induced granuloma. *Prostaglandins* 13, 17—24.
- Chenoweth, D. E., und Hugli, T. E. (1978): Demonstration of specific C5a receptor on intact human polymorphonuclear leucocytes. *Proc. natn. Acad. Sci., U. S. A.* 75, 3943—3947.
- Clark, R. A. F., Gallin, J. I., und Kaplan, A. P. (1975): The selective eosinophil chemotactic activity of histamine. *J. exp. Med.* 142, 1462—1476.
- Cochrane, C. G., Revak, S. D., und Wuepper, K. D. (1973): Activation of Hageman factor in solid and fluid phases: a critical role of kallikrein. *J. exp. Med.* 138, 1564—1583.
- Cohnheim, J. (1882): *Lectures on General Pathology. A handbook for practitioners and students.* 2nd edn, Vol. 1 (translated from German by A. B. McKee). The New Sydenham Society, London.
- Colten, H. R. (1976): Biosynthesis of complement. *Adv. Immunol.* 22, 67—118.
- Copley, A. L., Hanig, J. P., Luchini, B. W., und Allen, R. L. (1966): Capillary permeability enhancing action of fibrinopeptides isolated during fibrin monomer formation. *Fed. Proc.* 25, 446 (abs).

- Dale, H. H., and Richards, A. N. (1918): The vasodilator action of histamine and of some other substances. *J. Physiol., Lond.* 52, 110–165.
- Di Rosa, M., Giroud, J. P., and Willoughby, D. A. (1971): Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenin and turpentine. *J. Path.* 104, 15–29.
- Eakins, K. E., Higgs, G. A., Moncada, S., Salmon, J. A., and Spayne, J. A. (1980): The effects of arachidonate lipoxygenase products on plasma exudation in rabbit skin. *J. Physiol., Lond.* 307, 71P.
- Esparmer, V. (1954): Pharmacology of indolealkylamines. *Pharmacol. Rev., Lond.* 6, 425–487.
- Feldberg, W., and Saxena, P. N. (1971 a): Fever produced by prostaglandin E₁. *J. Physiol., Lond.* 217, 546–556.
- Feldberg, W., and Saxena, P. N. (1971 b): Further studies on prostaglandin E₁ fever in cats. *J. Physiol., Lond.* 219, 739–745.
- Fernandez, H. N., Henson, P. M., Otani, A., and Hughli, T. E. (1978): Chemotactic response to human C3a and C5a anaphylotoxins. I. Evaluation of C3a and C5a leukotaxis in vitro and under simulated in vivo conditions. *J. Immunol.* 120, 109–115.
- Ferreira, S. H., Moncada, S., Parsons, M., and Vane, J. R. (1974): The concomitant release of bradykinin and prostaglandins in the inflammatory response of carrageenin. *Br. J. Pharmacol.* 52, 108P.
- Ferreira, S. H., Moncada, S., and Vane, J. R. (1971): Indomethacin and aspirin abolish prostaglandin release from the spleen. *Nature New Biol.* 231, 237–239.
- Ferreira, S., and Vane, J. R. (1967): Prostaglandins; their disappearance from and release into the circulation. *Nature* 216, 868–873.
- Flower, R. J. (1974): Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis. *Pharmacol. Rev.* 26, 33–67.
- Flower, R. J., and Blackwell, G. J. (1976): The importance of phospholipase A₂ in prostaglandin biosynthesis. *Biochem. Pharmacol.* 25, 285–291.
- Flower, R. J., and Blackwell, G. J. (1979): Anti-inflammatory steroids induce biosynthesis of a phospholipase A₂ inhibitor which prevents prostaglandin generation. *Nature* 278, 456–459.
- Ford-Hutchinson, A. W., Bray, M. A., Doig, M. V., Shipley, M. E., and Smith, M. J. H. (1980): Leukotriene B, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leucocytes. *Nature* 286, 264–265.
- Gallin, J. I., Gallin, E. K., and Schiffman, E. (1979): Mechanisms of leucocyte chemotaxis. In: *Advance in Inflammation Research*, Vol. I. Eds G. Weissman, B. Samuelsson and R. Paoletti, Raven Press, New York, pp 123–138.
- Glatt, M., Kalin, H., Wagner, K., and Brune, K. (1977): Prostaglandin release from macrophages: an assay system for anti-inflammatory drugs in vitro. *Agents Actions* 7, 321–326.
- Goetzl, E. J., and Gorman, R. R. (1978): Chemotactic and chemokinetic stimulation of human eosinophil and neutrophil polymorphonuclear leucocytes by 12-L-hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid (HHT). *J. Immunol.* 120, 526–531.
- Goldblatt, M. W. (1935): Properties of human seminal plasma. *J. Physiol., Lond.* 84, 208–218.
- Goldblatt, M. W. (1933): A depressal substance in seminal fluid. *J. Soc. chem. Ind., Lond.* 52, 1056–1057.
- Gordon, S., Todd, J., and Cohn, Z. A. (1974): In vitro synthesis and secretion of lysozyme by mononuclear phagocytes. *J. exp. Med.* 139, 1228–1248.
- Greaves, M. W., and McDonald-Gibson, W. J. (1972): Inhibition of prostaglandin biosynthesis by corticosteroids. *Br. Med. J.* 2, 83–84.
- Gryglewski, R. J., Panczenko, B., Korbut, R., Grodzinska, L., and Oczekiewicz, A. (1975): Corticosteroids inhibit prostaglandin release from perfused lungs of sensitized guinea-pigs. *Prostaglandins* 10, 343–355.
- Hamberg, M., and Samuelsson, B. (1974): Prostaglandin endoperoxids. Novel transformations of arachidonic acid in human platelets. *Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A.* 71, 3400–3404.
- Hamberg, M., Svensson, J., and Samuelsson, B. (1975): Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxids. *Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A.* 72, 2994–2998.
- Hammarström, S., Hamberg, M., Samuelsson, B., Duell, E. A., Stawiski, M., and Voorhees, J. J. (1975): Increased concentrations of non-esterified arachidonic acid, 12-L-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid, prostaglandin E₂ and prostaglandin F_{2α} in epidermis of psoriasis: Evidence for perturbed regulation of arachidonic acid levels in psoriasis. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 72, 5130–5134.
- Harkness, R. A. (1981): The characteristic cell of acute inflammation, the polymorphonuclear neutrophil leucocyte, and its biochemistry. *Molec. Aspects Med.* 4, 191–207.
- Higgins, A. J., and Lees, P. (1983): Phenylbutazone inhibition of prostaglandin E₂ production in equine acute inflammatory exudate. *Vet. Rec.* 113, 622–623.
- Higgins, A. J., and Lees, P. (1984 a): A bioassay technique for prostaglandin-like activity in equine inflammatory exudate. *Br. vet. J.* (in press).
- Higgins, A. J., and Lees, P. (1984 b): Arachidonic acid metabolites in carrageenin-induced equine inflammatory exudate. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 7, 65–72.
- Higgins, A. J., Lees, P., and Higgs, G. A. (1984 a): The detection of prostaglandin-like activity in equine inflammatory exudate: A preliminary report. *Equine vet. J.* 16, 71–73.
- Higgins, A. J., Lees, P., and Taylor, J. B. (1984 b): Influence of phenylbutazone on eicosanoid levels in equine inflammatory exudate. *Cornell Vet.* (in press).
- Higgins, A. J., Lees, P., and Wright, J. A. (1984 c): A tissue-cage model for the collection of inflammatory exudate in ponies. *Res. vet. Sci.* (in press).
- Higgs, G. A., Eakins, K. E., Mugridge, K. G., Moncada, S., and Vane, J. R. (1980): The effects of non-steroid anti-inflammatory drugs on leucocyte migration in carrageenin-induced inflammation. *Eur. J. Pharmacol.* 66, 81–86.
- Higgs, G. A., Flower, R. J., and Vane, J. R. (1979): A new approach to anti-inflammatory drugs. *Biochem. Pharmacol.* 28, 1959–1961.
- Higgs, G. A., Harvey, E. A., Ferreira, S. H., and Vane, J. R. (1976): The effects of anti-inflammatory drugs of the production of prostaglandins in vivo. In: *Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research*, Vol. 1. Eds B. Samuelsson and R. Paoletti, Raven Press, New York, pp 105–110.
- Higgs, G. A., Moncada, S., Salmon, J. A., and Seager, K. (1983): The source of thromboxane and prostaglandins in experimental inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 79, 863–868.
- Higgs, G. A., Palmer, R. M. J., Eakins, K. E., and Moncada, S. (1981): Arachidonic acid metabolism as a source of inflammatory mediators and its inhibition as a mechanism of action for anti-inflammatory drugs. *Molec. Aspects Med.* 4, 275–301.
- Higgs, G. A., and Salmon, J. A. (1979): Cyclo-oxygenase products in carrageenin-induced inflammation. *Prostaglandins* 17, 737–746.
- Humes, J. L., Bonney, R. J., Pelus, L., Dahlgren, M. E., Sadowski, S. J., Kuehl, F. A., and Davies, P. (1977): Macrophages synthesise and release prostaglandins in response to inflammatory stimuli. *Nature* 269, 149–151.
- Hurley, J. V. (1963): Incubation of serum with tissue extracts as a cause of chemotaxis of granulocytes. *Nature* 198, 1212–1213.
- Hurley, J. V. (1972): *Acute inflammation*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Johnson, A. R., Hughli, T. E., and Müller-Eberhard, H. J. (1975): Release of histamine from rat mast cells by the complement peptides C3a and C5a. *Immunology* 28, 1067–1080.
- Johnson, R. A., Morton, D. R., Kinner, J. H., Gorman, R. R., McGuire, J. C., Sun, F. F., Whitaker, N., Bunting, S., Salmon, J. A., Moncada, S., and Vane, J. R. (1976): The chemical structure of Prostaglandin X (prostacyclin). *Prostaglandins* 12, 915–928.
- Kinoshita, T., Inoue, K., Okada, M., and Akiyama, Y. (1977): Release of phospholipids for liposomal model membrane damaged by antibody and complement. *J. Immunol.* 119, 73–78.

- Klickstein, L. B., Shapleigh, T., und Goetzl, E. J. (1980): Unique products of the oxygenation of arachidonic acid in synovial fluid in rheumatoid arthritis and spondylarthritis. *Arthritis Rheum.* 23, 704–705.
- Laki, K. (1968): Fibrinogen. Marcel Dekker, New York.
- Lees, P., Creed, R. F. S., Gerring, E. E. L., Gould, P. W., Humphreys, D. J., Maitbo, T. E., Michell, A. R., und Taylor, J. B. (1983): Biochemical and haematological effects of phenylbutazone in horses. *Equine vet. J.* 15, 158–167.
- Lees, P., und Higgins, A. J. (1984): Clinical pharmacology and therapeutic uses of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the horse. *Equine vet. J.* (in press).
- Lees, P., Maitbo, T. E., Millar, J. D., und Taylor, J. B. (1982): Pharmacokinetics of phenylbutazone in Welsh Mountain ponies. *A.V.C.P.T. Proceedings* 7, 32–37.
- Levy, D. (1974): Histamine and Serotonin. In: *Mediators of Inflammation*. Ed G. Weissman. Plenum Press, New York, pp 141–161.
- Lewis, G. P., und Piper, P. J. (1975): Inhibition of release of prostaglandins as an explanation of some of the actions of anti-inflammatory corticosteroids. *Nature* 254, 308–311.
- Lewis, T. (1927): The blood vessels of the human skin and their responses. Shaw & Sons, London.
- Main, I. H. M., und Whittle, B. J. R. (1975): Investigation of the vasodilator and antisecretory role of prostaglandins in the rat gastric mucosa by use of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Br. J. Pharmacol.* 53, 217–224.
- Majno, G., und Palade, G. E. (1961): Studies on inflammation I. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: An electron microscope study, *J. biophys. biochem. Cytol.* 11, 571–605.
- Majno, G., Palade, G. E., und Schoefl, G. I. (1961): Studies on inflammation II. The site of action of histamine and serotonin along the vascular tree: a topographic study. *J. biophys. biochem. Cytol.* 11, 607–626.
- McCall, E., und Youlten, L. J. F. (1973): Prostaglandin E₁ synthesis by phagocytosing rabbit polymorphonuclear leucocytes: its inhibition by indomethacin and its role in chemotaxis. *J. Physiol., Lond.* 234, 98P.
- McGiff, J. C., Crowshaw, K., Terragno, N. A., Lonigro, A. J., Strand, J. C., Williamson, M. A., Lee, J. B., und Ng, K. K. F. (1970): Prostaglandin-like substances appearing in canine renal venous blood during renal ischaemia. *Circ. Res.* 28, 765–782.
- Metchnikoff, E. (1905): *Immunity in ineffective diseases*. (Translated by F. G. Binnie) Cambridge University Press, Cambridge.
- Moncada, S., Salmon, J. A., Vane, J. R., White, B. J. R. (1977): Formation of prostacyclin (PGI₂) and its product, 6-oxo-PGF_{1α}, by the gastric mucosa of several species. *J. Physiol., Lond.* 275, 45P.
- Moncada, S., Ferreira, S. H., und Vane, J. R. (1974): Sensitisation of pain receptors of dog knee joints by prostaglandins. In: *Prostaglandin Synthetase Inhibitors*. Eds H. J. Robinson and J. R. Vane. Raven Press, New York, pp 189–195.
- Moncada, S., Gryglewski, R. J., Bunting, S., und Vane, J. R. (1976): An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxids to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 263, 663–665.
- Morris, H. R., Taylor, G. W., Piper, P. J., und Tippins, J. R. (1980): Structure of slow reacting substance of anaphylaxis from guinea-pig lung. *Nature* 285, 104–106.
- Müller-Eberhard, H. J. (1975): In: *The phagocytic cell in host resistance*. Eds J. A. Bellanti and D. H. Dayton. Raven Press, New York, pp 87–89.
- Murphy, R. C., Hammarström, S., und Samuelsson, B. (1979): Leukotriene C: a slow reacting substance from murine mastocytoma cells. *Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A.* 76, 4275–4279.
- Naff, G. B., Pensky, J., und Lepkow, I. H. (1964): The macromolecular nature of the first component of human complement. *J. exp. Med.* 119, 593–613.
- Nelson, N. A. (1974): Prostaglandin nomenclature. *J. med. Chem.* 17, 911–918.
- Nugteren, D. H. (1975): Arachidonate lipoxygenase in blood platelets. *Biochem. biophys. Acta.* 380, 299–307.
- Palmer, R. M. J., Stepney, R., Higgs, G. A., und Eakins, K. E. (1980): Chemokinetic activity of arachidonic acid lipoxygenase products on leucocytes from different species. *Prostaglandins* 20, 411–418.
- Piper, P. J. (1983): Pharmacology of leukotrienes. *Br. med. Bull.* 39, 255–259.
- Piper, P., und Vane, J. R. (1971): The release of prostaglandins from lung and other tissues. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 180, 363–385.
- Ramwell, P. W., Foegh, M., Loeb, R., und Leovey, E. M. K. (1980): Synthesis and metabolism of prostaglandins, prostacyclin and thromboxanes: the arachidonic acid cascade. *Seminars in Perinatology* 4, 3–13.
- Ratnoff, O. D., und Naff, G. B. (1967): The conversion of C'1s to C'1 esterase by plasmin and trypsin. *J. exp. Med.* 125, 337–358.
- Robbins, S. L., und Cotran, R. S. (1979): *Pathologic basis of disease*. W. B. Saunders, London.
- Rocha e Silva, M., Beraldo, W. T., und Rosenfeld, G. (1949): Bradykinin, a hyposensitive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin. *Am. J. Physiol.* 156, 261–273.
- Rouzer, C. A., Scott, W. A., Cohn, Z. A., Blackburn, P., und Manning, J. M. (1980): Mouse peritoneal macrophages release leukotriene C in response to a phagocytic stimulus. *Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A.* 77, 4928–4932.
- Rowley, D. A., und Benditt, E. P. (1956): 5-hydroxytryptamine and histamine as mediators of the vascular injury produced by agents which damage mast cells in rats. *J. exp. Med.* 102, 399–411.
- Ruddy, S. (1974): The complement and properdin systems. In: *Mediators of Inflammation*. Ed G. Weissman. Plenum Press, New York, pp 113–140.
- Russo-Marie, F., und Duval, D. (1980): Mechanism of action of glucocorticosteroids on prostaglandin secretion. In: *Prostaglandin Synthetase Inhibitors: New Clinical Applications*. Ed. P. Ramwell. Alan R. Liss, New York, pp 13–29.
- Ryan, G. B., und Majno, G. (1977): Acute inflammation. *Am. J. Path.* 86, 184–276.
- Salmon, J. A., und Flower, R. J. (1979): VI. Prostaglandins and related compounds. In: *Hormones in Blood*, Vol. 2, 3rd edn. Eds C. Gray and V. James. Academic Press, London, pp 237–319.
- Samuelsson, B., Goldyne, M., Granstrom, E., Hamberg, M., Hammarström, S., und Malmsten, C. (1978): Prostaglandins and thromboxanes. *A. Rev. Biochem.* 47, 997–1029.
- Samuelsson, B., Hammarström, S., Murphy, R. C., und Borgeat, P. (1980): Leukotrienes and slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A). *Allergy* 35, 375–384.
- Schorlemmer, H.-U., Davies, P., Hilton, W., Gugig, M., und Allison, A. C. (1977): The selective release of lysosomal acid hydrolases from mouse peritoneal macrophages by stimuli of chronic inflammation. *Br. J. exp. Pathol.* 58, 315–326.
- Sell, S. (1972): *Immunology, Immunopathology and Immunity*. Harper & Row, New York.
- Simmons, P. A., Salmon, J. A., und Moncada, S. (1983): The release of leukotriene B₂ during experimental inflammation. *Biochem. Pharmacol.* 32, 1353–1359.
- Skidmore, I. F. (1981): Anti-inflammatory steroids – the pharmacological and biochemical basis of clinical activity. *Molec. Aspects Med.* 4, 303–327.
- Slauson, D. O. (1976): The Inflammatory Process. *Proc. 27th Ann. Mtg. Am. Coll. vet. Path., Miami, Florida*, Dec. 1976.
- Smith, H. A., und Jones, T. C. (1970): *Veterinary Pathology*, 3rd edn. – Lea & Febiger, Philadelphia.
- Smith, J. B., und Willis, A. L. (1971): Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature New Biol.* 231, 235–237.

- Snow, D. H. (1983): Anti-inflammatory agents. In: *Pharmacological Basis of Large Animal Medicine*. Eds. J. A. Bogan, P. Lees and A. T. Yoxall, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp 391–427.
- Snow, D. H., Bogan, J. A., Douglas, T. A., und Thompson, H. (1979): Phenylbutazone toxicity in ponies. *Vet. Rec.* 105, 26–30.
- Snow, D. H., Douglas, T. A., Thompson, H., Parkins, J. J., und Holmes, P. M. (1981): Phenylbutazone toxicosis in equidae: a biochemical and pathophysiological study. *Am. J. vet. Res.* 42, 1754–1759.
- Stecher, V. J., und Sorokin, E. (1972): The chemotactic activity of fibrin lysis products. *Int. Archs. Allergy* 43, 879–886.
- Tamanini, C., Seren, E., Pezzoli, G., und Guidetti, M. (1980): Concentrazione delle prostaglandine E₁-E₂ nel liquido sinoviale di cavalli affetti da artropatie. *Clinica vet.* 103, 544–549.
- Thompson, P. L., Papadimitriou, J. M., und Walters, M. N. I. (1967): Suppression of leucocytic sticking and emigration by chelation of calcium. *J. Path. Bact.* 94, 389–396.
- Tsurufuji, S., Sugio, K., Takemasa, F., und Yoshizawa, S. (1980): Blockage by anti-glucocorticoids, actinomycin D and cycloheximide of anti-inflammatory action of dexamethasone against bradykinin. *J. Pharmac. exp. Ther.* 212, 221–231.
- Turner, S. R., Tainer, J. A., und Lynn, W. S. (1975): Biogenesis of chemotactic molecules by the arachidonate lipoxygenase system of platelets. *Nature* 257, 680–681.
- Udenfriend, S., und Waalkes, T. P. (1959): On the role of serotonin in anaphylaxis. In: *Mechanisms of Hypersensitivity*. Eds J. H. Shaffer, G. A. Lo-Grippe and M. W. Chase. Little & Brown, Boston, pp 219–226.
- Uvnäs, B. (1969): Mast cells and histamine release. *Ind. J. Pharmacol.* 1, 23–32.
- Van Dorp, D. A. (1967): Aspects of the biosynthesis of prostaglandins. *Progr. Biochem. Pharmacol.* 3, 71–82.
- Van Dorp, D. A., Beerthuis, R. K., Nugteren, D. H., und Vonkeman, H. (1964): The biosynthesis of prostaglandins. *Biochem. biophys. Acta.* 90, 204–207.
- Vane, J. R. (1971): Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biol.* 231, 232–235.
- Vane, J. R. (1972): Prostaglandins in the inflammatory response. In: *Inflammation, Mechanisms and Control*. Eds. I. H. Lepow and P. A. Ward. Academic Press, London, pp 261–279.
- Vane, J. R. (1976): The mode of action of aspirin and similar compounds. *J. Allergy clin. Immun.* 58, 691–712.
- Velo, G. P., Dunn, C. J., Giroud, J. P., Timsit, J., und Willoughby, D. A. (1973): Distribution of prostaglandins in inflammatory exudate. *J. Path.* 111, 149–158.
- Von Euler, U. S. (1935 a): Über die spezifische blutdrucksenkende Substanz des menschlichen Prostata- und Samenblasensekretes. *Klin. Wschr.* 14, 1182–1183.
- Von Euler, U. S. (1935 b): An adrenaline-like action in extracts from the prostatic and related glands. *J. Physiol., Lond.* 81, 102–112.
- Von Euler, U. S. (1936): On the specific vasodilating and plain muscle stimulating substance from accessory genital glands in man and certain animals (prostaglandin and vesiglandin). *J. Physiol., Lond.* 88, 213–234.
- Ward, P. A. (1974): Leukotaxis and leukotactic disorders: A review. *Am. J. Path.* 77, 520–538.
- Ward, P. A., Cochrane, C. G., und Müller-Eberhard, H. J. (1966): Further studies on the chemotactic factor of complement and its formation in vivo. *Immunology* 11, 141–153.
- Whaley, K., und Ferguson, A. (1981): Molecular aspects of complement activation. *Mol. Aspects. Med.* 4, 209–273.
- Wilhelm, D. L. (1971): Kinins in human disease. *A. Rev. Med.* 22, 63–84.
- Williams, T. J. (1979): Prostaglandin E₂, Prostaglandin I₂ and the vascular changes of inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 65, 517–524.
- Williams, T. J. (1983): Interactions between prostaglandins, leukotrienes and other mediators of inflammation. *Br. Med. Bull.* 39, 239–242.
- Williams, T. J., und Morley, J. (1973): Prostaglandins as potentiators of increased vascular permeability in inflammation. *Nature* 246, 215–217.
- Willis, A. L. (1969): Release of histamins, kinin and prostaglandins during carrageenin-induced inflammation of the rat. In: *Prostaglandins, Peptides and Amines*. Eds P. Mantegazza and E. W. Horton. Academic Press, London, pp 31–38.
- Windaus, A., und Vogt, W. (1907): Synthese des Imidazoläthylamins. *Berichte* 40, 3691–3695.
- Wuepper, K. D., und Cochrane, C. G. (1972): Plasma and prekallikrein: isolation, characterisation and mechanisms of activation. *J. exp. Med.* 135, 1–20.
- Zweifach, B. W., Shorr, E., und Black, M. W. (1953): The influence of the adrenal cortex on the behaviour of the terminal vascular bed. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 56, 626–633.
- Zweifach, B. W., Grant, L., und McCluskey, R. T. (1974): *The Inflammatory Process*, 2nd ed. Vols 1, 2, 3. Academic Press, London.

A. J. Higgins
 Department of Physiology
 Royal Veterinary College
 North Mymms, Hatfield, AL9 7TA
 Hertfordshire, UK

Erschienen in *Equine Veterinary Journal* (1984) 3, 163,
 übersetzt und veröffentlicht mit freundlicher Genehmigung
 der British Equine Veterinary Association.

Die vorliegende Arbeit wurde von der British Equine Veterinary
 Association ausgezeichnet als die beste wissenschaftliche
 Veröffentlichung des Jahres 1984 in *Equine Veterinary Journal*.