

# Die Charakterisierung des zytoplasmatischen Proteaseinhibitors auf Pferdeleukozyten mit der Fibrinogenplattenelektrophorese : Wanderung, Enzym- und Organspezifität

Autor(en): **Fellenberg, R. von / Pellegrini, A.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **121 (1979)**

PDF erstellt am: **29.04.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-593517>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie der Universität Zürich  
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. H. Spörri)

## **Die Charakterisierung des zytoplasmatischen Proteaseinhibitors aus Pferdeleukozyten mit der Fibrinogenplattenelektrophorese: Wanderung, Enzym- und Organspezifität<sup>1</sup>**

von R. von Fellenberg<sup>2</sup> und A. Pellegrini

### **Einleitung und Fragestellung**

Im Rahmen unserer Arbeiten über endogene Faktoren, welche für die chronisch-obstruktiven Lungenkrankheiten («Lungendampf») des Pferdes mitverantwortlich sind, interessieren uns besonders alle Proteaseinhibitoren, die neutrale Leukozytenproteasen hemmen [6]. Neutrale Leukozytenproteasen sind in den azurophilen Granula der neutrophilen Granulozyten lokalisiert worden [1]. Aufgrund experimenteller Befunde nimmt man an, dass die Enzyme, wenn sie, freigesetzt, ungenügend durch Inhibitoren inaktiviert werden, an der Pathogenese des alveolären Lungenemphysems beteiligt sind [12, 13].

Neben den Inhibitoren des Blutes gibt es auch Gewebs- und Sekretinhibitoren [5, 6, 7]. Insbesondere enthalten neutrophile Granulozyten einen intrazellulären Inhibitor im Zytoplasma. Der Inhibitor wurde bei verschiedenen Species nachgewiesen, nämlich bei Mensch [10, 11], Pferd [2] und Schwein [14]. Die letztgenannte Art besitzt sogar zwei Granulozyteninhibitoren.

Aufgrund der eben dargestellten Verhältnisse haben wir uns die Aufgabe gestellt, den zytoplasmatischen Leukozyteninhibitor des Pferdes mit Hilfe der Fibrinogenplattenelektrophorese zusätzlich zu charakterisieren und ihn mit den Inhibitoren des Blutes zu vergleichen. Auch die Gewebsspezifität wurde geprüft. Die erhaltenen Resultate bestätigten die Existenz eines spezifischen Leukozyteninhibitors.

### **Methoden**

#### *Granulaextrakt mit neutraler Proteaseaktivität*

Die Methode wurde schon beschrieben [6].

#### *Zytoplasmatische Fraktion von Leukozyten mit Inhibitoraktivität*

Die Fraktionierung wurde von Dubins Originalmethode abgeleitet [2]. Fünf Liter Zitratblut wurden während zweier Stunden stehengelassen. Das Plasma mit

<sup>1</sup> Diese Arbeit wurde mit der Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds durchgeführt (Projekt Nr. 3.958-078).

<sup>2</sup> Adresse: PD Dr. R. von Fellenberg, Institut für Veterinär-Physiologie, Universität Zürich, Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zürich.

den Leukozyten wurde abgehebert, und diese wurden während 15 Minuten bei 600 g zentrifugiert. Die Leukozyten wurden in 100 ml Hanks-Lösung, die 75 E Heparin/ml enthielt, resuspendiert. Die Zellen wurden wieder zentrifugiert und in Hanks-Lösung aufgenommen, jedoch ohne Heparinzusatz. Die Leukozyten wurden zum drittenmal zentrifugiert, in einem Teil Wasser suspendiert und während 30 Sekunden gut geschüttelt. Als Folge dieses Vorgehens wurden die verbleibenden Erythrozyten selektiv lysiert. Dann wurde ein Teil 0,28 n NaCl zugegeben, um die Lösung wieder isoton zu machen. Die Leukozyten wurden wiederum zentrifugiert, dann in 100 ml 0,25 m Saccharoselösung, die mit 0,01 m Na-Phosphat auf pH 7,4 gepuffert war, suspendiert und mit einem Glashomogenisator nach Potter desintegriert. Das Homogenat wurde 15 Minuten bei 600 g zentrifugiert. Das Sediment enthielt die Zellkerne und noch intakte Zellen, der Überstand alle anderen Zellorganellen. Das Sediment wurde in 50 ml gepufferter Saccharoselösung nochmals homogenisiert, zentrifugiert, und der zweite Überstand wurde mit dem ersten vereinigt. Das Gemisch wurde während 30 Minuten bei 20 000 g scharf zentrifugiert, um die Lysosomen und Granula zu sedimentieren. Der resultierende Überstand bestand aus der zytoplasmatischen Fraktion, die den Leukozyteninhibitor enthielt. Zur elektrophoretischen Analyse wurde der Überstand in einer Amicon-CS-15-Zelle 40fach eingedickt.

#### *Zytoplasmatische Fraktionen von Leber- und Lungengewebe*

5 g Gewebe wurden im gleichen Medium wie die Leukozyten mit dem Potter'schen Glashomogenisator aufgeschlossen. Das Volumen der Suspension wurde auf 37 ml (Volumen des Zentrifugenbeckers) gebracht und während 15 Minuten bei 600 g zentrifugiert. Das kernenthaltende Sediment wurde weggeworfen, und der Überstand wurde wiederum während 30 Minuten bei 39 000 g zentrifugiert. Der resultierende zweite Überstand wurde in einer Amicon-CS-15-Kammer 20fach eingedickt. Eine noch weitergehende Eindickung der Leber- und Lungenfraktionen hatte eine so starke Viskositätserhöhung zur Folge, dass die Lösungen nicht mehr auf befriedigende Weise in das Fibrinogen-Agarosegel eindringen.

#### *Elektrophoretische Analyse der Inhibitoren*

Die Methode der Fibrinogenplattenelektrophorese zur Charakterisierung der Inhibitoren ist schon beschrieben worden [3, 4].

#### *Qualitative Bestimmung der Hemmaktivität des zytoplasmatischen Leukozyteninhibitors gegenüber den neutralen Leukozytenproteasen*

Zur Klärung der Frage, ob alle nachweisbaren neutralen Leukozytenproteasen durch den zytoplasmatischen Inhibitor gehemmt werden, inkubierten wir einen Teil proteolytisch aktiven Granulaextrakt, der 40fach in einer Amicon-CS-15-Zelle eingedickt worden war, mit verschiedenen Teilen Leukozytenzytoplasma, das 80fach eingedickt worden war. Nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten bei

Zimmertemperatur wurde die verbleibende proteolytische Aktivität in der Fibrinogenplattenelektrophorese wie schon beschrieben qualitativ analysiert [6]. Als Kontrolle diente Granulaextrakt ohne Inhibitor.

## Resultate

### *Vergleich der elektrophoretischen Beweglichkeit und der Enzymspezifität des Leukozyteninhibitors mit den Seruminhibitoren*

In den Abbildungen 1–3 ist die elektrophoretische Wanderung des Leukozyteninhibitors im Vergleich zu den Seruminhibitoren dargestellt. Der Inhibitor wanderte wenig anodewärts im Beta-Bereich. Seiner Position entsprach kein Serum-inhibitor. Dies bestätigte die Befunde von *Dubin* [2], dass sich der Leukozyteninhibitor von den Seruminhibitoren unterscheidet. Weiter geht aus den Abbildungen 1–3 hervor, dass der Leukozyteninhibitor die Pankreasenzyme Trypsin (Abb.1), Chymotrypsin (Abb.2) und Elastase (Abb.3) inhibierte.

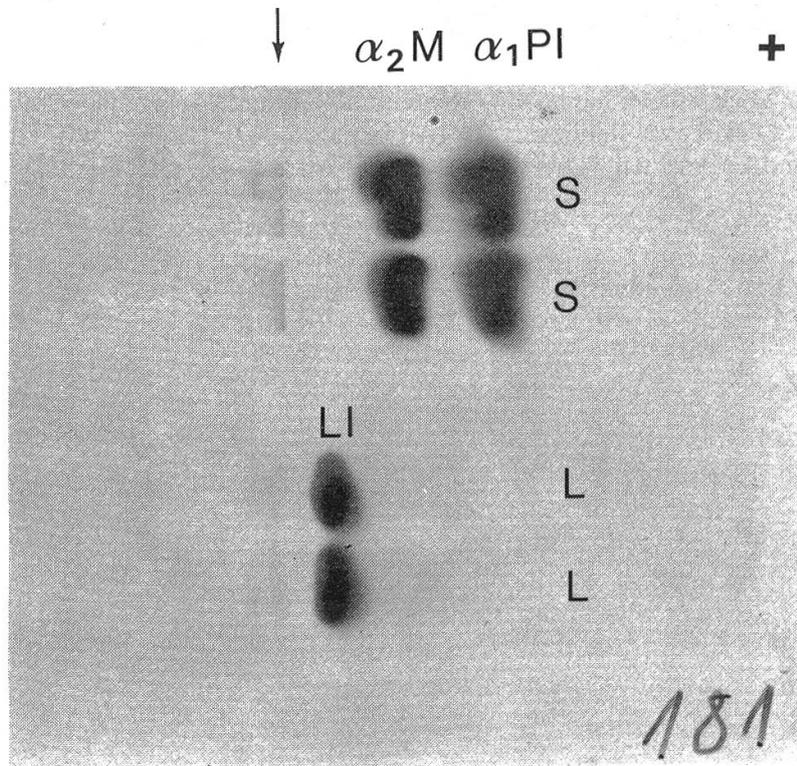


Abbildung 1 Der Leukozyteninhibitor und die Seruminhibitoren gegenüber Trypsin. Pfeil: Auftragstelle. LI: Leukozyteninhibitor.  $\alpha_2$ M: Alpha-2-Makroglobulin.  $\alpha_1$ PI: Alpha-1-Proteaseinhibitor. Serum und Leukozyten waren vom gleichen Pferd. S: Serum. L: Leukozyten.

### *Hemmung der neutralen Leukozytenproteasen durch den Inhibitor*

In Abbildung 4 ist die Hemmung der neutralen Leukozytenproteasen durch den zytoplasmatischen Inhibitor wiedergegeben. Die Vorinkubation des Granulaextraktes mit zunehmenden Anteilen Zytoplasma in b) bis d) hatte zur Folge, dass

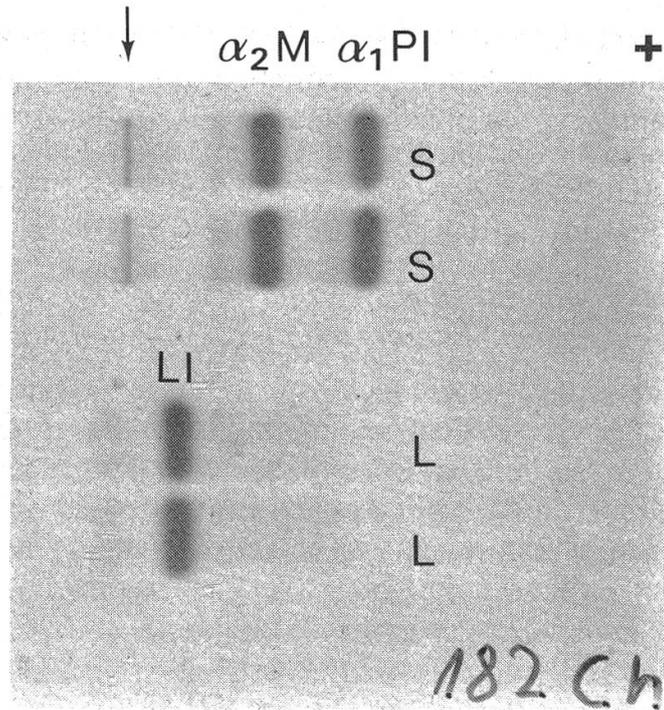


Abbildung 2 Der Leukozyteninhibitor und die Seruminhibitoren gegenüber Chymotrypsin. Pfeil: Auftragstelle. LI: Leukozyteninhibitor.  $\alpha_2M$ : Alpha-2-Makroglobulin.  $\alpha_1PI$ : Alpha-1-Proteaseinhibitor. Serum und Leukozyten waren vom gleichen Pferd. S: Serum. L: Leukozyten.

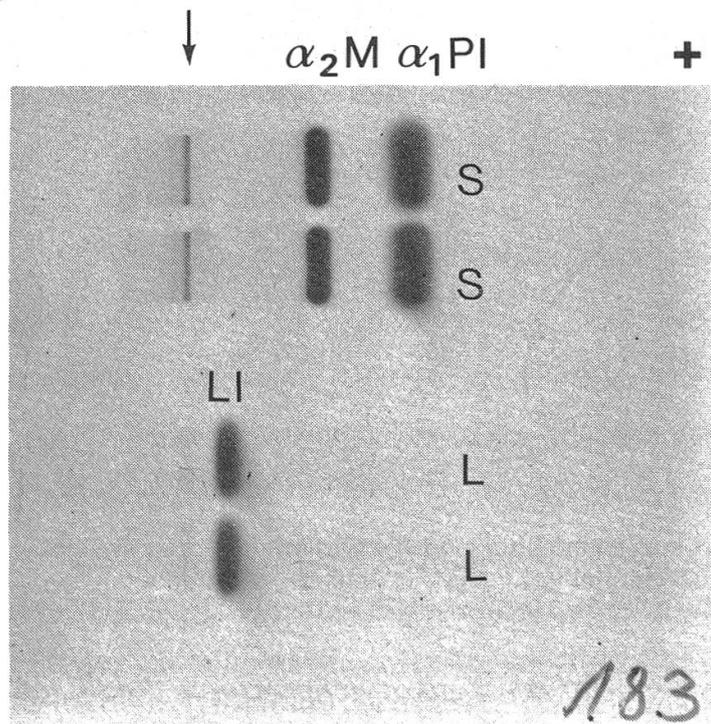


Abbildung 3 Der Leukozyteninhibitor und die Seruminhibitoren gegenüber Elastase. Pfeil: Auftragstelle. LI: Leukozyteninhibitor.  $\alpha_2M$ : Alpha-2-Makroglobulin.  $\alpha_1PI$ : Alpha-1-Proteaseinhibitor. Serum und Leukozyten waren vom gleichen Pferd. S: Serum. L: Leukozyten.

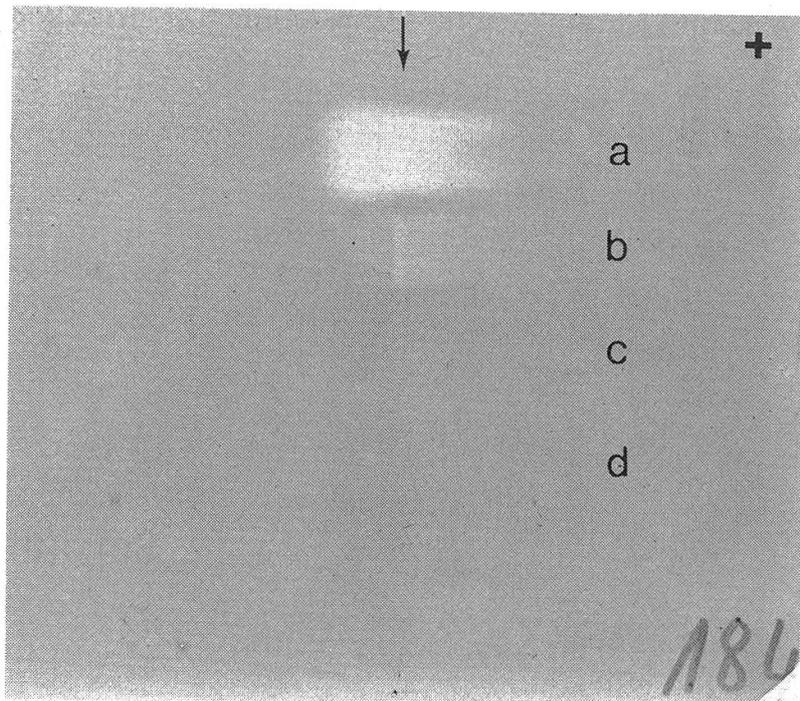


Abbildung 4 Die Hemmung der neutralen Leukozytenproteasen durch den zytoplasmatischen Inhibitor aus Leukozyten. Pfeil: Auftragstelle.

a: 1 T Proteaselösung + 3 T Puffer = Kontrolle.

b: 1 T Proteaselösung + 1 T Inhibitorlösung + 2 T Puffer.

c: 1 T Proteaselösung + 2 T Inhibitorlösung + 1 T Puffer.

d: 1 T Proteaselösung + 3 T Inhibitorlösung.

Die Proben wurden während 15 Minuten bei Zimmertemperatur vorinkubiert und dann elektrophoretisch aufgetrennt. Sichtbar sind die verbleibenden Proteaseaktivitäten.

die proteolytische Aktivität, im Vergleich zum unbehandelten Extrakt in a), vollständig gehemmt werden konnte. Der zytoplasmatische Inhibitor war somit in der Lage, die Aktivität aller zelleigenen, neutralen Granulaproteasen zu unterbinden.

### *Organspezifität*

Es stellte sich die Frage, inwieweit zelleigene Proteaseinhibitoren mit der angewandten Methode auch in anderen Organen nachweisbar waren. Einmal haben wir Lungengewebe analysiert, dann auch Lebergewebe als Organ, das zahlreiche Lysosomen besitzt. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in den Abbildungen 5–7 wiedergegeben. In der Leber konnten wir mit unserer Technik ausser Seruminhibitoren keine distinkt abgegrenzten Inhibitorbanden nachweisen. Die verwischten, langgezogenen Streifen mögen von Leberproteinen stammen, die durch die Proteasen nur ungenügend abgebaut und im nachfolgenden Spülprozess nicht ausgeschwemmt wurden. Zudem war bei verschiedenen Proben gefärbtes Material an der Auftragstelle erkennbar. Auch dieses Phänomen betrachten wir als Artefakt. Demgegenüber konnten wir im Lungengewebe eine – wenn auch schwache – Inhibitorbande gegen Chymotrypsin und Elastase wahrnehmen, nicht

aber gegen Trypsin. Die elektrophoretische Wanderung war gleich wie beim Leukozyteninhibitor.

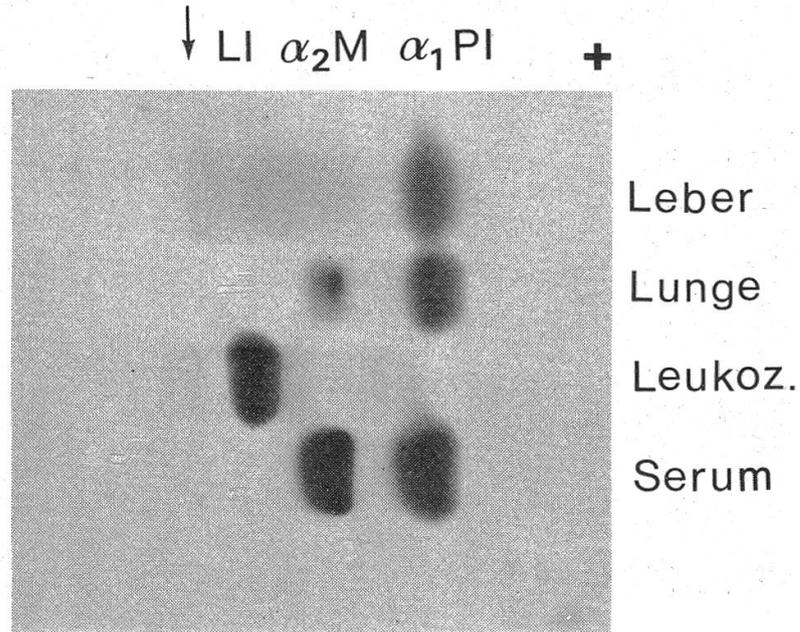


Abbildung 5 Die Organspezifität des Leukozyteninhibitors gegenüber Trypsin. Pfeil: Auftragstelle. LI: Leukozyteninhibitor.  $\alpha_2$ M: Alpha-2-Makroglobulin.  $\alpha_1$ PI: Alpha-1-Proteaseinhibitor. Serum, Leukozyten und Organe waren von verschiedenen Tieren.

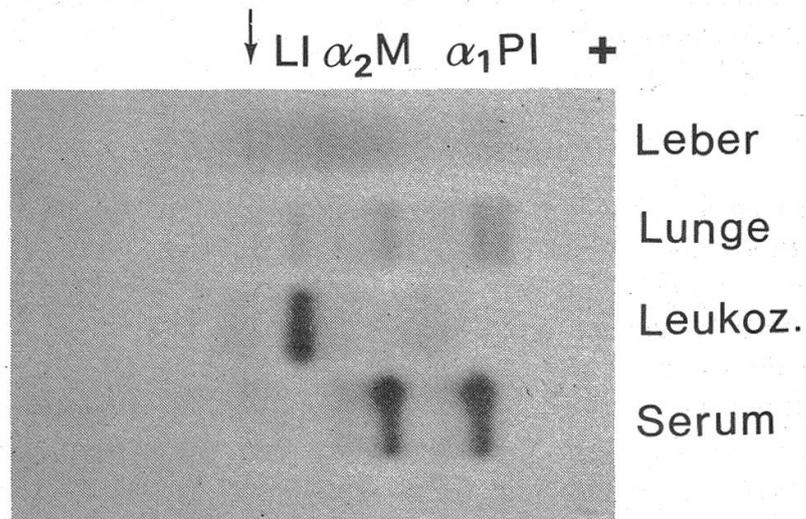


Abbildung 6 Die Organspezifität des Leukozyteninhibitors gegenüber Chymotrypsin. Pfeil: Auftragstelle. LI: Leukozyteninhibitor.  $\alpha_2$ M: Alpha-2-Makroglobulin.  $\alpha_1$ PI: Alpha-1-Proteaseinhibitor. Serum, Leukozyten und Organe waren von verschiedenen Tieren.

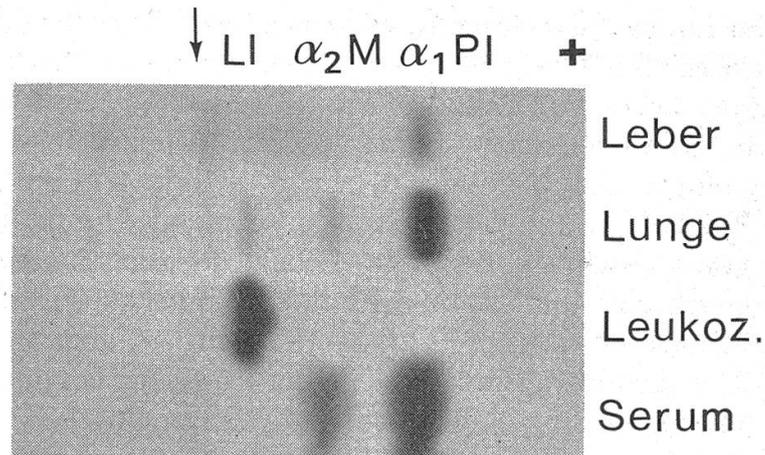


Abbildung 7 Die Organspezifität des Leukozyteninhibitors gegenüber Elastase. Pfeil: Auftragstelle. LI: Leukozyteninhibitor.  $\alpha_2$ M: Alpha-2-Makroglobulin.  $\alpha_1$ PI: Alpha-1-Proteaseinhibitor. Serum, Leukozyten und Organe waren von verschiedenen Tieren.

### Diskussion

Der von *Dubin* entdeckte, aus Pferdeblut isolierte, zytoplasmatische Leukozyteninhibitor ist thermolabil, hat einen isoelektrischen Punkt von 5,38 und ein Molekulargewicht von 32 000 Daltons [2]. Unsere Resultate bestätigten die Existenz eines zytoplasmatischen Leukozyteninhibitors, der sich elektrophoretisch von den Inhibitoren des Serums unterschied. In der Fibrinogenplattenelektrophorese wanderte er im Beta-Bereich. Wie *Dubins* [2] und die vorliegenden Resultate zeigten, war der Inhibitor wenig selektiv und hemmte sowohl pankreatische Enzyme als auch leukozytäre. In seinen quantitativen Experimenten konnte *Dubin* zeigen, dass Chymotrypsin am stärksten, Trypsin dagegen am schwächsten gehemmt wurde [2]. Der leukozytäre Inhibitor des Menschen dagegen hatte ein sehr enges Hemmspektrum, denn er inhibierte nur Elastase [10]. Ein Grund für diesen grossen Speziesunterschied mag darin liegen, dass die Hemmspezifität des menschlichen Inhibitors ausschliesslich mit kleinmolekularen, synthetischen Substraten gemessen wurde, währenddem *Dubin* [2] Kasein und wir denaturiertes Fibrinogen als Protease-substrat verwendeten. Es wäre interessant und aufschlussreich, die Hemmspezifität des Inhibitors als Funktion verschiedener Proteasesubstrate vergleichend näher zu prüfen. Es ist bekannt, dass Alpha-2-Makroglobulin z.B. die Aktivität von Proteasen mit kleinmolekularen, synthetischen Substraten nur sehr wenig hemmt [15].

Wir haben zeigen können, dass in der zytoplasmatischen Fraktion von Lungengewebe ein Inhibitor nachweisbar war, der sich elektrophoretisch gleich verhielt wie der Leukozyteninhibitor. Er konnte mit Chymotrypsin und mit Elastase, nicht jedoch mit Trypsin nachgewiesen werden. Die Inhibitorbande war schwach, und es ist deshalb sehr wahrscheinlich, dass es sich um Leukozyteninhibitor handelte. Der fehlende Nachweis mit Trypsin scheint die oben erwähnte geringe Hemmbarkeit von Trypsin zu bestätigen. Das Vorhandensein von Leukozyteninhibitor in der Lunge, nicht jedoch in der Leber, deutet auf die Anwesenheit relativ vieler Leuko-

zyten in der Lunge. Dies stimmt wiederum mit der Tatsache überein, dass die Lunge das hauptsächlichste Organ ist, wo die Leukozyten sequestriert werden [9].

Das Zytoplasma von Lebergewebe enthielt keine gewebsspezifischen Proteaseinhibitoren. Es ist jedoch bekannt, dass die Alpha-1-Inhibitoren und Alpha-2-Makroglobulin zur Hauptsache in der Leber gebildet und ins Blut sezerniert werden [8, 15]. Möglicherweise üben diese zirkulierenden Inhibitoren gleichzeitig die Funktion von Gewebsinhibitoren der Leberzellen aus. Ein anderer Grund, warum ein organspezifischer Inhibitor in der Leber nicht nachgewiesen werden konnte, mag darin liegen, dass er nicht im Zytoplasma lokalisiert, aber an strukturelle Bestandteile der Zelle gebunden ist und deshalb der Erfassung entging.

Die physiologische Funktion des zytoplasmatischen Leukozyteninhibitors wurde bisher noch nicht ermittelt. Einerseits könnte er einfach dazu da sein, die Zellen vor Autolyse zu schützen. Andererseits wäre es auch möglich, dass der Inhibitor intrazelluläre Steuerfunktionen über Proteaseaktivitäten ausübt, z.B. bei der Bildung von Phagolysosomen. Bei der Modulation von pathophysiologischen Prozessen als Folge der Phagozytose und der «umgekehrten Phagozytose» an festen Oberflächen durch neutrophile Granulozyten scheint er nicht beteiligt zu sein. Bei beiden Prozessen werden nämlich lysosomale Enzyme in aktiver Form freigesetzt, welche am Entzündungsgeschehen beteiligt sind [16]. Beim Zerfall von Granulozyten dagegen könnte er, frei geworden, zur Inaktivierung der zellulären Proteasen beisteuern und kommt deshalb als möglicher endogener pathogenetischer Faktor für chronisch-obstruktive Lungenkrankheiten in Frage.

#### Zusammenfassung

Der leukozytäre Proteaseinhibitor des Pferdes wurde mit Hilfe der Fibrinogenplattenelektrophorese analysiert. Der Inhibitor wanderte im Beta-Bereich und konnte deutlich von den Serum-inhibitoren unterschieden werden. Seine Enzymspezifität war gering, insbesondere hemmte er, neben den Pankreasenzymen Trypsin, Chymotrypsin und Elastase, alle neutralen Leukozytenproteasen. Der Inhibitor konnte in geringen Mengen in der zytoplasmatischen Fraktion von Lungengewebe, nicht aber von Lebergewebe nachgewiesen werden. Die mögliche pathogenetische Bedeutung des Inhibitors für chronisch-obstruktive Lungenkrankheiten wurde diskutiert.

#### Résumé

L'inhibiteur de la protéase leucocytaire chez le cheval a été analysé à l'aide de l'électrophorèse sur plaques du fibrinogène. L'inhibiteur était décalé dans la fraction bêta et pouvait être nettement différencié des inhibiteurs du sérum. Sa spécificité enzymatique était faible. En plus des enzymes du pancréas, la trypsine, la chymotrypsine et l'élastase, il inhibe toutes les protéases leucocytaires neutres. L'inhibiteur a pu être mis en évidence en petite quantité dans la fraction cytoplasmique du tissu pulmonaire, mais pas dans celle du tissu hépatique. Le rôle pathogénétique possible de l'inhibiteur dans les affections pulmonaires chroniques et obstructives est mis en discussion.

#### Riassunto

L'inibitore leucocitario delle proteasi del cavallo è stato analizzato con la elettroforesi su piastre di fibrinogeno. L'inibitore ha mostrato migrazione nella regione delle  $\beta$ -globuline e ha potuto essere distinto con chiarezza dagli inibitori sierici. La sua specificità per gli enzimi era molto ridotta, in particolare era in grado di inibire, oltre agli enzimi pancreatici tripsina, chimotripsina ed elastasi, tutte

le proteasi leucocitarie neutre. L'inibitore poteva essere dimostrato in piccola quantità nella frazione citoplasmatica del tessuto polmonare, ma non in quella del tessuto epatico. Si discute il possibile significato patogenico dell'inibitore per le pneumopatie cronico-obstruttive.

### Summary

The protease inhibitor of horse leucocytes was analysed by fibrinogen plate electrophoresis. The inhibitor migrated to the beta-region and could easily be distinguished from the serum inhibitors. Its enzyme specificity was poor and it inhibited the pancreatic enzymes trypsin, chymotrypsin and elastase as well as all neutral leucocyte proteases. The inhibitor was detected in small amounts in the cytoplasmic fraction of lung tissue but not of liver tissue. The importance of the inhibitor as a possible pathogenic factor for chronic-obstructive lung disease was discussed.

### Literatur

- [1] Dewald B., Rindler-Ludwig R., Bretz U. and Baggiolini M.: Subcellular Localization and Heterogeneity of Neutral Proteases in Neutrophilic Polymorphonuclear Leucocytes. *J. exp. Med.* 141, 709–723 (1975). – [2] Dubin A.: A Polyvalent Proteinase Inhibitor from Horse-Blood-Leucocyte Cytosol. Isolation, Purification and Some Molecular Parameters. *Eur. J. Biochem.* 73, 429–435 (1977). – [3] von Fellenberg, R.: Vergleichende Studie über die Trypsininhibitoren aus der Lunge und dem Serum von Pferd und Rind. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 120, 343–355 (1978). – [4] von Fellenberg R.: Elektrophoretische Analyse der Proteaseinhibitoren von Pferdeserum. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 120, 631–642 (1978). – [5] von Fellenberg R., Minder H., Wegmann Ch. und Frei F.: Lungen-, Sekret- und Blut-Proteaseinhibitoren von Pferd und Rind: Eine vergleichende Studie über endogene, prädisponierende Faktoren für chronisch-obstruktive Lungenkrankheiten. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 121, 355–365 (1979). – [6] von Fellenberg R. und Pellegrini A.: Die Hemmung neutraler Leukozytenproteasen durch die Proteaseinhibitoren des Pferdes. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 121, 405–412 (1979). – [7] Fritz H., Trautschold I. und Werle E.: Proteaseinhibitoren. In: *Methoden der enzymatischen Analyse*, Hsg. Bergmeyer H.U., Bd.1, 1005–1122 (1974). – [8] Grob P.J.: Alpha-1-Antitrypsin. *Erg. Innere Med. und Khk.* 38, 95–199 (1976). – [9] Heinemann H.O. and Fishman A.P.: Non-respiratory Functions of Mammalian Lung. *Physiol. Rev.* 49, 1–47 (1969). – [10] Janoff A. and Blondin J.: Inhibition of the Elastase-Like Esterase in Human Leucocyte Granules by Human Leucocyte Cell Sap. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 136, 1050–1073 (1971). – [11] Janoff A. and Blondin J.: Further Studies on an Esterase Inhibitor in Human Leucocyte Cytosol. *L. Invest.* 25, 565–571 (1971). – [12] Junod A.F.: Facteurs endogènes dans le développement de l'emphysème. *Schweiz. Med. Wschr.* 108, 260–262 (1978). – [13] Kimbel P., Mass B., Ikeda T. and Weinbaum G.: Emphysema in Dogs Induced by Leucocyte Contents. In: *Pulmonary Emphysema and Proteolysis*, ed. Mittman Ch., Academic Press, 411–417 (1972). – [14] Koptiar M. and Lebez D.: Intracellular Distribution of Neutral Proteinases and Inhibitors in Pig Leucocytes. Isolation of Two Inhibitors of Neutral Proteinases. *Eur. J. Biochem.* 56, 571–581 (1975). – [15] Starkey P.M. and Barret A.J.:  $\alpha_2$ -Macroglobulin, a physiological regulator of proteinase activity. In: *Proteinases in mammalian cells and tissues*, 663–696, ed. Barrett A.J., by North-Holland Publishing Company (1977). – [16] Weissmann G., Zurier R. B. and Hoffstein S.: Leucocytic Proteases and the Immunologic Release of Lysosomal Enzymes. *Am. J. Path.* 68, 539–559 (1972).

## REFERAT

### Wirtschaftliche Aspekte des Umweltschutzes

#### Mängel und Grenzen der bisherigen Wirtschaftstätigkeit

Zürich (IC). – Die rasante Entwicklung der wirtschaftlichen Aktivitäten seit dem Zweiten Weltkrieg hat zu Umweltbelastungen geführt, die in jüngster Zeit vor allem deshalb ins Zentrum des öffentlichen Interesses gerückt sind, weil die Gefährdung der Ökosphäre in den vergangenen Jahren deutlich sichtbar geworden ist und weite Kreise der Bevölkerung irgendwie davon betroffen werden. In diesem