

## Beeinflussung der Leukozytenemigration ins künstliche Entzündungsfeld

(Versuch einer regulationstheoretischen Deutung)

Von

O. BÍLEK, P. JANSÁ und M. KUČERA

Forschungsinstitut für Pädiatrie, Brno, Tschechoslowakei  
(Eingegangen am 25. Januar, 1967)

In einer vorherigen Mitteilung hatten wir eine Modifikation der klassischen REBUCKschen Hautfenstermethode beschrieben [1] und ihre Vorteile für das Studium der Reaktionsweise des kindlichen Organismus hervorgehoben. Das eigentliche Ziel, das wir verfolgten, war eine Feststellung der Beziehungen zweier Gesetzmäßigkeiten, welche die entzündliche Zellemigration beherrschen, und zwar: die lokalen Einflüsse im Entzündungsfeld und die Regulationen des Organismus.

Das Studium dieser Beziehungen wurde durch die hochgradige Standardisation der Hautläsion in der von uns ausgearbeiteten Modifikation der klassischen Methode ermöglicht. Im Gegensatz zu REBUCK ist die Läsion mit großer Genauigkeit reproduzierbar, und die Möglichkeit einer Kontamination der Deckgläser mit Zellen aus geöffneten Kapillarschlingen ist praktisch ausgeschlossen.

Zuerst versuchten wir, durch Beeinflussung des Organismus mit einem unspezifischen Proteinreiz den Zusammenhang zwischen lokalen Regulationsmechanismen und den größeren, den Organismus als Ganzheit

umfassenden Regulationskreisen zu finden. Einen tieferen Einblick in den lokalen Regulationskreis versuchten wir zu gewinnen, indem wir Stoffe auf das Entzündungsfeld auftrugen, von denen eine theoretisch begründete Änderung der gewohnten Verlaufsweise der Zellemigration zu erwarten ist. Wir benutzten dazu Chloroform und Azeton wegen ihrer Wirkung auf die geweblichen Mediatoren in der Haut, ferner Gammaglobulin, das bekanntlicherweise eine leukotaktische und phagozytosefördernde Wirkung ausübt.

### MATERIAL UND METHODEN

Unser Beobachtungsgut bildeten insgesamt 40 Kinder im Alter von 6—14 Jahren. Die erste Gruppe bestand aus 25 Kindern mit chronischer Mittelohrentzündung, die übrigen klinischen Befunde waren negativ. Bei jedem Kind wurden je 2 Hautfenster mit unserer Technik angelegt. Am Ende der Beobachtung der Emigration ins Entzündungsfeld (d. h. nach 24 Stunden) wurde den Kindern intramuskulär Milcheiweiß injiziert. Am Höhepunkt der generalisierten Reaktion auf diesen unspezifischen Proteinreiz, der sich in Fieber, Leukozytose und erhöhter Sedimentation äußerte, wurde ein zweites

Hautfenster angelegt. Die Deckgläser wurden nach 4, 8, 12 bzw. 24 Stunden gewechselt.

In der zweiten Gruppe waren 15 Kinder; 3 waren Rekonvaleszenten nach traumatischem Nasenbeinbruch, 12 litten an chronischer Mittelohrentzündung, die übrigen klinischen Befunde waren negativ. In dieser Versuchsreihe wurden bei jedem Kind je 4 Hautfenster angelegt, jeweils 2 und 2 auf jeden Vorarm in demselben Innervationsgebiet. Nachdem die Ablation der oberflächlichen Hautschichten vollendet war, wurde auf die verwundete Stelle unmittelbar vor Anlegen des Deckglases ein Tropfen Chloroform, Azeton oder 1% Gammaglobulin aufgetragen. Das vierte Hautfenster ohne chemischen Reiz diente als Kontrolle. Da wir hier nur die Initialphase erfassen wollten, tauschten wir die Gläser nach 2, 4 und 6 Stunden aus.

Unser Krankengut bildete also, mit Ausnahme der 3 eigentlich schon gesunden Kindern, Kranke mit einem chronischen Entzündungsprozeß. Der Prozeß war durchwegs in einer ruhigen Phase, d. h. mit normaler Sedimentation, normalem Blutbild und einem keine Beschwerden verursachenden lokalen Befund.

## ERGEBNISSE

Die Behandlung mit artfremdem Eiweiß, das als unspezifischer Antigenreiz wirkt, führte bei den untersuchten Kindern zu einer Temperaturerhöhung durch 2—3 Tage, leichter Leukozytose mit Neutrophilie und Sedimentationserhöhung. Die Resultate der Hautfensteruntersuchung teilen wir in vier folgende Gruppen:

1. Bei 2 Fällen kam es zu keiner Veränderung in der Zellemigration vor und nach Proteinreiz.

2. Bei 4 Patienten kam es zu einer Verkürzung der Neutrophilendomi-

nante. Nach 8 Stunden waren im Entzündungsfeld die Monozyten deutlich vermehrt, nach 12 Stunden erfolgte ein zweiter Neutrophilenschub, der bis zum Ende der Beobachtungszeit dauerte.

3. Bei 5 Patienten dauerte die Monozytendominante die ganze Beobachtungszeit hindurch, d. h. sie wurde von einer Neutrophilendominante nicht abgelöst.

4. Bei 14 Kindern, also bei mehr als der Hälfte der Fälle war als Antwort auf den Proteinreiz das Reaktionsbild eindeutig von neutrophilen Granulozyten beherrscht. Diese Zellen emigrierten reichlich und blieben in Mehrzahl die ganze Beobachtungszeit hindurch. Die Monozyten erschienen im Entzündungsfeld erst später, beherrschten aber das Bild in keiner Phase des Versuches.

Bei 8 Kranken war dabei eine Eosinophilie bis zu 5% zu beobachten, entweder vor oder nach dem Proteinreiz; nur bei 3 Patienten kam die Eosinophilie sowohl vor wie nach dem Proteinreiz vor. Wir konnten diese Erscheinung in keinen kausalen Zusammenhang mit der Proteinbehandlung, dem Zeitfaktor oder einer der 4 Reaktionsweisen bringen.

Bei einer zweiten Gruppe von 15 Kindern versuchten wir die erste Phase der Emigration (Neutrophilendominante) mit lokal wirkenden Substanzen zu beeinflussen.

Ein Vergleich der Reaktion mit und ohne Chloroform zeigte keine qualitative Unterschiede, dagegen war die Emigration quantitativ gesteigert. Die Neutrophilen erschienen im Ent-

zündungsfeld früher. Diese Beobachtung machten wir schon früher und da sich die Resultate konstant erwiesen, bestanden wir auf der Benutzung von Chloroform in unserer standardisierten Hautfenstermethode. Azeton beeinflusste in keiner Weise den bekannten Umschlag der beiden Dominanten, doch waren diese Präparate extrem zellarm und auch der zeitliche Verlauf war verzögert, da es nur langsam zu einem zahlenmäßigen Anstieg der emigrierten Zellen kam. Eine morphologische Schädigung der ausgewanderten Leukozyten war dabei deutlich bemerkbar. Ein auffallender atypischer Befund war bei einem Drittel der Fälle eine ausgeprägte Eosinophilie während der Neutrophilendominante; die Eosinophilen waren in den Präparaten in lokalen Anhäufungen bis zu 20% zu finden.

Gammaglobulin förderte die Zellmigration nicht. Die Präparate waren zellarm, wenn auch nicht in dem Ausmaß, wie nach Azetonzugabe. In panoptisch gefärbten Präparaten haben wir viele amorphe nicht-zellige, sich tiefblau färbende Massen beobachtet. In Analogie zu Blutaustriichen z. B. bei Hyperglobulinämie halten wir sie für koaguliertes Eiweiß.

#### BESPRECHUNG

Unser Ziel war die Auswanderung der Leukozyten ins Entzündungsfeld regulationstheoretisch deuten zu können. Den ganzen Vorgang wollen wir als einen Fall einer Programmrege-

lung ansehen, bei dem ein im voraus bestimmter Ablauf verwirklicht wird.

Da mit unserer Methode die Kapillarschlingen im Entzündungsfeld nicht beschädigt werden, müssen wir einen Mechanismus voraussetzen, der in den einzelnen Phasen die Auswanderung selektiv beeinflusst. Bei unseren theoretischen Überlegungen (s. Abb. 1) wollen wir diesen Mechanismus als Phasenfilter bezeichnen. Während der ersten Phase ist dieser Filter für Neutrophile durchlässig. In der zweiten Phase wird die Durchlässigkeit des Filters funktionsmäßig geändert, und es kommt im Entzündungsfeld zu einer Anhäufung von Monozyten. Die morphologisch faßbaren Änderungen der Neutrophilen am Anfang der Emigration [2, 3] dürften mit diesem Funktionswechsel im Zusammenhang stehen und regulationstheoretisch einen Feedbackmechanismus darstellen. Diese Regelung funktioniert weitgehend autonom und im peripheren Zellbild weitgehend unabhängig.

Ein aspezifischer Proteinreiz — in unseren Versuchen das Milcheiweiß — welcher eine Leukozytose mit Linksverschiebung, Temperaturanstieg usw., also eine vegetative Umschaltung hervorruft, modifiziert den üblichen Verlauf. Es kommt also zu einem Ineinandergreifen zweier Regulationskreise, wobei der lokale Regulationskreis seine sonst beträchtliche Autonomie einbüßt und das Resultat dieses Wirkungsgefüges ein Umschlag des Programmverhaltens des Filters ist. Dieses Verhalten konnten wir in der Mehrzahl der Fälle fest-

stellen. Daß der übrige Teil der untersuchten Fälle eine uneinheitliche Reaktion gab, ist nur ein Beweis dafür, daß die Verhaltungsweise des Filters

toren [4]. Azeton aktiviert dagegen das Bradykinin [5], welches wahrscheinlich die Entstehung einer parakeratösen Schicht über dem Entzündungs-

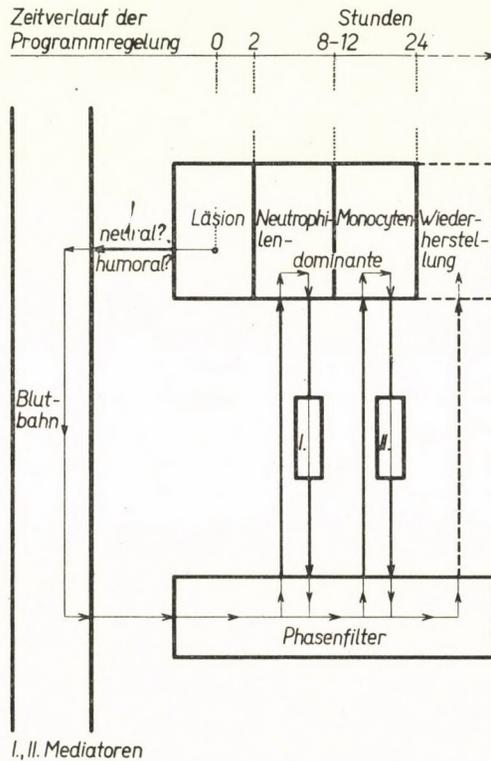


ABB. 1

noch anderen Regulationskreisen unterliegt. Die angeführten Vorstellungen versuchten wir in Abb. 1 schematisch darzustellen.

Über das Wesen dieses hypothetischen Filters wollten wir etwas näheres erfahren, indem wir die Emigration durch solche Stoffe zu beeinflussen versuchten, deren Wirkung auf die lokalen Gewebsmediatoren bekannt ist. Chloroform hebt die Blockierungsmechanismen und führt daher zu einer Aktivierung der Media-

dungsfeld fördert. Dies stimmt mit unseren Befunden überein. Zu einer Verlängerung und Potenzierung der Neutrophilendominante nach Gammaglobulin kam es nicht, trotz der wohlbekanntem phagozytosefördernden und bewegungsbeschleunigenden Wirkung dieses Eiweißes [6]. Wir kamen also zum Schluß, daß die genannten Stoffe auf unseren hypothetischen Filter nur einen quantitativen Einfluß haben, in die eigene Programmfunktion aber nicht eingreifen.

Schließlich soll noch die Eosinophilie nach Azetonzugabe besprochen werden. Aus früheren Arbeiten über die Leukozytenauswanderung ist bekannt, daß es keine konstante Beziehung zwischen der Zahl der Eosinophilen im peripheren Blut und der Zahl der ausgewanderten Eosinophilen im Entzündungsfeld gibt [3, 6]. Der relativ hohe Prozentsatz (33%) der Fälle mit lokaler Eosinophilenanhäufung während der ersten Phase der Emigration läßt auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Azetonwirkung und Eosinophilenemigration schließen. Wir sind aber der Meinung, daß das Azeton nicht unmittelbar wirkt, sondern zur eosinophilotaktischen Wirkung es noch einer oder mehrerer Bedingungen bedarf. Diese Bedingungen sind zur Zeit noch nicht geklärt, und eine Allergie auf Azeton kann auch nicht ausgeschlossen werden. Jedenfalls konnten wir keine Unterschiede zwischen den positiv und negativ reagierenden Kindern feststellen.

#### ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde versucht, die Zellmigration ins künstliche Entzündungsfeld zu beeinflussen.

2. Bei 14 von 25 Kindern verursachte ein unspezifischer Proteinreiz eine Verlängerung und Potenzierung der Neutrophilenphase der Emigration.

3. Bei 15 Kindern wurde von 4 gleichzeitig angelegten Entzündungsfeldern je eins mit Chloroform, Azeton bzw. Gammaglobulin vorbehandelt. Chloroform führte zu einer zahlenmäßig gesteigerten Zellemigration. Gammaglobulin und Azeton hemmten die Auswanderung, Azeton führte außerdem noch bei einem Drittel der Fälle zu einer lokalen Eosinophilenanhäufung.

4. Zur Erläuterung der Zusammenhänge zwischen den einzelnen Teilvergängen der Reparation wird ein Schema einer Programmregelung dieser Vorgänge vorgeschlagen.

#### LITERATUR

1. BÍLEK, O., ROVENSKÝ, J., JANSA, P., POSPÍŠIL, R.: Eine Methode zur gleichzeitigen Analyse der zellulären und humoralen Komponente der Entzündung *Acta paediat. Acad. Sci. Hung.* **3**, 211 (1967).
2. RIIS, P.: Cytology of inflammatory exudate. Munksgaard, Copenhagen 1959.
3. REBUCK, J. W., CROWLEY, J. H.: A method of studying leucocytic functions in vivo. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **59**, 757 (1955).
4. CHRISTENSEN, L. R.: Activation of plasminogen by chloroform. *J. gen. Phys.* **30**, 149 (1946).
5. EISEN, V.: Fibrinolysis and formation of biologically active polypeptides. *Brit. med. Bull.* **20**, 205 (1964).
6. ROBBINS, J. B., KENNY, K., SUTER, E.: Isolation and biological activities of rabbit  $\gamma$  M- and anti-Salmonella typhimurium antibodies. *J. exp. Med.* **122**, 385 (1965).

MUDr. O. BÍLEK

Černopolní 9

Brno, Tschechoslowakei