

(Aus dem Laboratorium der pathologischen Physiologie des medizinischen
Staatsinstituts zu Woronesh [Vorstand: Prof. J. M. Goldberg].)

Vom Einfluß photoaktiver Stoffe auf das weiße Blutbild bei Kaninchen.

Von

Dr. W. N. Nekludow,

1. Assistent.

(Eingegangen am 6. Juni 1933.)

Während der letztverflossenen Zeit lenkte die Frage von der Wirkung photodynamischer Stoffe auf den tierischen Organismus die Aufmerksamkeit zahlreicher Forscher auf sich, was vollkommen verständlich ist, da sie eine große nicht nur theoretische, sondern auch praktische Bedeutung hat.

In diesen Untersuchungen sind folgende Teilfragen ausführlich behandelt: Von dem Einfluß photodynamischer Stoffe auf Bakterien und Protozoen, von der Abhängigkeit der Konzentration des Sensibilisators, von der Intensität des Lichtes, von der Rolle der Lichtsensibilisatoren bei Anaphylaxie, von dem Einfluß derselben auf die Arbeit isolierter Organe und gleichfalls auf Hämolyse usw. (*Dognon A.*¹, *Bates, John and Hugh S. Taylor*², *Biszeglie, Vincenzo*³, *Sugano, Hayachi*⁴, *Girard*⁵, *Fabre*⁶, *Lakschewitz*⁷, *Vanagida Taizo*⁸, *Tappeiner*⁹, *Viale, Gaetano*¹⁰).

Dem Studium des Einflusses der photodynamischen Stoffe auf das blutbildende System ist verhältnismäßig wenig Aufmerksamkeit geschenkt worden, ich verweise nur auf die Untersuchungen von *N. Smetana*.

Deshalb habe ich mir in der vorliegenden Arbeit die Aufgabe gestellt, die biologische Wirkung einiger Lichtsensibilisatoren (Chinin, Eosin) auf das weiße Blutbild zu untersuchen.

Methodik.

In allen Versuchsreihen benutzte ich als Versuchstiere Kaninchen, mit einem Gewicht von 2320—4520 g. Vor dem Versuch wurde das Blut auf seine Normalität im Laufe von 2—3 Tagen untersucht. Die Gesamtmenge der Leukocyten wurde in der *Türckschen* Kammer ausgezählt. Die leukocytaire Formel wurde nach *Schilling* ermittelt (Auszählung bis zu 500 Zellen).

Beschreibung der Versuche.

Gruppe 1. Fünf Kaninchen, mit vorher festgestelltem weißem Blutbild, wurde in die Randvene des Ohres, vermittelst einer Rekordspritze je 1 ccm 0,1% Lösung von Chin. muriat. eingeführt. Die Prüfung des weißen Blutbildes fand nach 15 Min. 4 Stunden, 24 Stunden und viermal 24 Stunden nach Beginn des Versuchs statt.

Gruppe 2. Sechs Kaninchen dieser Gruppe wurde in die Randvene des Ohrs je 1 ccm 0,1% Lösung von Chin. muriat. eingeführt, welche zwei Stunden vorher, in einer Entfernung von 30 cm von der Lichtquelle, bestrahlt worden waren.

Der weitere Verlauf des Versuches, war dem der vorhergehenden Gruppe vollkommen gleich.

Gruppe 3. Der Unterschied in der Art des Versuchs dieser Gruppe und den Gruppen 1 und 2 besteht nur darin, daß sechs Kaninchen (mit sicher normalem Weißblutbild) in die Randvene des Ohres je 5 ccm 0,1% Lösung von Chin. muriat. eingeführt wurden. Im weiteren verlief der Versuch in gleicher Weise wie bei den vorhergehenden Gruppen.

Gruppe 4. Sechs Kaninchen dieser Gruppe wurde intravenös je 5 ccm 0,1% Lösung von Chin. muriat. eingeführt, welche vorher, im Laufe von zwei Stunden, in einer Entfernung von 30 cm, mit einer Quarzlampe bestrahlt worden waren. Der weitere Verlauf des Versuchs war dem der vorhergehenden Gruppen gleich.

Gruppe 5. An sechs Kaninchen der gegebenen Gruppe war vor dem Versuch eine Untersuchung des weißen Blutbildes ausgeführt worden.

Darnach wurden die Versuchstiere einer Bestrahlung von ultravioletten Strahlen (Bachsche Lampe) im Laufe von 40 Min., in einer Entfernung von 30 cm ausgesetzt.

Nach der Bestrahlung wurde das weiße Blutbild untersucht, und zwar nach 15 Min., vier Stunden, 24 Stunden und viermal 24 Stunden.

Gruppe 6. Diese Gruppe unterschied sich von der vorhergehenden nur dadurch, daß den Kaninchen vor ihrer Bestrahlung mit ultraviolettem Licht intravenös je 1 ccm 0,1% Lösung von Chin. muriat. eingeführt wurde.

Gruppe 7. Sechs Kaninchen dieser Reihe wurde in die Randvene des Ohres je 1 ccm 0,01% Eosinlösung eingespritzt. Das Blut zur Untersuchung auf die Gesamtzahl der Leukocyten und die leukocytaire Formel wurde 15 Min., 4 Stunden, 24 Stunden und viermal 24 Stunden nach Beginn des Versuchs entnommen.

Gruppe 8. Sechs Kaninchen dieser Gruppe, mit vorher untersuchtem Weißblutbild, wurde auf die gleiche Weise intravenös (in die Randvene des Ohres) je 1 ccm 0,01% Eosinlösung eingeführt, welche mit einer Quarzlampe im Laufe von zwei Stunden, in einer Entfernung von 30 cm von der Lichtquelle, bestrahlt worden war. Der weitere Verlauf des Versuchs war dem der Versuchsreihe, Gruppe 7 vollkommen gleich.

Gruppe 9. Der Versuch dieser Gruppe unterschied sich von dem bei der vorhergehenden nur dadurch, daß sechs Kaninchen, welche vorher hinsichtlich des weißen Blutbildes untersucht worden waren, nach intravenöser Einspritzung 1 ccm 0,01% Eosinlösung, einer Bestrahlung mit einer Quarzlampe, im Laufe von 40 Min., in einer Entfernung von 30 cm von der Lichtquelle ausgesetzt wurden.

Das Blutbild wurde nach 15 Min., vier Stunden, 24 Stunden und viermal 24 Stunden nach der Bestrahlung der Tiere mit ultraviolettem Licht untersucht. Das Gewicht und die Temperatur der Tiere wurden gleichfalls bestimmt.

Gruppe 10. Kontrollgruppe. An vier Kaninchen dieser Reihe wurde das weiße Blutbild im Laufe von sieben Tagen untersucht (nüchtern), nach Schilling.

Wenn es auch im Schrifttum eine ganze Reihe von Arbeiten gibt, welche dem Studium des Einflusses von Sonnenlicht und der ultravioletten Energie auf die Veränderungen des weißen Blutbildes gewidmet sind, so zeichnen sich die Ergebnisse dieser Beobachtungen nicht durch Gleichartigkeit der Schlußfolgerungen aus.

Die Strahlenenergie wird nicht vollständig in der Epidermis der Haut adsorbiert, aber indem sie die Capillaren erreicht, wirkt sie auf das Hämoglobin des Blutes ein.

Nach den Beobachtungen von Bering und Meyer kann man voraussetzen, daß das Licht den Vorgang der Dissoziation des Hämoglobins und der Abspaltung des freien Sauerstoffes beschleunigt. Zu gleicher

Zeit kann man, auf Grund der Arbeiten *Schläpfers* der Meinung sein, daß das Blut, wenn es die Strahlenenergie absorbiert, sie nachher auch wieder abgeben kann, in Form chemisch aktiver Strahlen. Somit wird man, wenn die Befunde der Beobachtungen sich bestätigen werden, ohne Zweifel denken können, daß die Strahlenenergie vom Blut tiefer gelegenen Organen und Geweben zugeführt wird.

Die Beobachtungen einer Reihe von Autoren *Malasser*¹³, *Kestner*¹⁴, *Lenkei*¹⁵, *Riedel*¹⁶, *D'Oelsnitz*¹⁷ kennzeichnen die andauernde Wirkung des Sonnenlichts als eine Vermehrung der Hämoglobinmenge und der Erythrocyten. Die Vergrößerung der Erythrocyten- und Hämoglobinmenge ist im gegebenen Fall keine relative, wie man sie nach einem einmaligen Sonnenbad, im Zusammenhang mit Schwitzen und Blutverdichtung beobachtet (*Lenkei*). Hier handelt es sich bei andauernder Wirkung der Sonnenstrahlenenergie, am wahrscheinlichsten um eine verstärkte Regeneration der Erythrocyten, was eine Folge der erregenden Wirkung des Lichtes ist.

Die Versuchsergebnisse *Oerums*¹⁸ bestätigen die Beobachtungen der oben erwähnten Autoren. Tiere, welche sich im Laufe einiger Monate in Dunkelheit befunden hatten, verloren bedeutend an der Gesamtmenge des Hämoglobins und des Blutes überhaupt, im Vergleich mit Kontrolltieren.

Im weißen Blutbild wird, unter dem Einfluß der Sonnenstrahlen, bei Kindern Leukocytose beobachtet (*Aschenheim*¹⁹) mit vorwiegendem Anwachsen der Lymphocyten. Bei Erwachsenen beobachteten die Forscher ungefähr dasselbe Bild und gleichfalls wird von ihnen eine Linksverschiebung der Leukocyten nach *Schilling*, vermerkt (*Ramain*²⁰, *Sirotnin* u. a.). Außerdem entdeckte *D'Oelsnitz* ein Anwachsen der Eosinophilen, unter dem Einfluß des Sonnenlichts. *Königsfeld*²¹ und *Lippmann*²² vermerken, hinsichtlich der erregenden Wirkung der „Höhensonne“ auf das blutbildende System nach den Bestrahlungen eine Vergrößerung der Neutrophilenzahl und in etwas geringerem Grade der Mononuclearen. Nach vielmaligen Bestrahlungen fällt die Zahl der polymorphkernigen Leukocyten und geht in eine Vermehrung der Lymphocytenzahl über. Die letzteren Autoren haben hierbei auch Eosinophilie beobachtet.

Die Ergebnisse unserer Versuche, hinsichtlich der Veränderung des weißen Blutbildes unter dem Einfluß der Lichtsensibilisatoren — Chininlösung und ultraviolette Energie — sind folgende:

Bei intravenöser Einführung von 1 ccm 0,1% Lösung von Chininmuriat wird beim Kaninchen, 15 Min. nach der Injektion eine Leukopenie beobachtet. In vier Stunden kehrt in diesem Versuch die Gesamtzahl der Leukocyten wieder zur anfänglichen Norm zurück. Gleichzeitig konnte man bei einigen Versuchstieren eine Zunahme der pseudo-eosinophilen Leukocyten bemerken, mit nachfolgender Abnahme der Pseudoeosinenzahl, 24 Stunden nach dem Versuch.

Bei intravenöser Einführung von 1 ccm 0,1% Chininlösung, welche vorher mit einer Quarzlampe, im Laufe von zwei Stunden bestrahlt worden war, wurde beim Kaninchen eine ziemlich heftige Leukocytose beobachtet, welche schon 15 Min. nach dem Versuch begann, mit maximaler Zunahme der Leukocyten — entweder während der ersten 15 bis 20 Min. oder vier Stunden nach Einführung der bestrahlten Chininlösung.

Die Veränderungen in der leukocytären Formel charakterisieren sich in der vorliegenden Versuchsgruppe durch eine bedeutende Zunahme des prozentualen Bestandes an Pseudoeosinophilen, mit Anwachsen stäbchenartiger Formen bei einigen Versuchstieren. Nach 24 Stunden hält sich die prozentuale Menge der Pseudoeosinophilen bei einigen Tieren auf einer verhältnismäßig beträchtlichen Höhe, in anderen Fällen sinkt sie wieder bis zur Norm vor dem Versuch. Diese Gruppe der Versuche ergibt auch, außer den aufgezählten Veränderungen in dem weißen Blutbild, gleichfalls ein prozentuales Anwachsen der Eosinophilenzahl, mit einem Maximum der Zunahme derselben 15 Min. bis vier Stunden nach Beginn des Versuchs.

Man muß gleichfalls in der leukocytären Formel ein gewisses Anwachsen des Prozentsatzes der Monocyten, die Erscheinung einer toxischen Körnigkeit im Protoplasma der Pseudoeosinophilen, sowie Lysis der Pseudoeosinophilkerne verzeichnen. Hinsichtlich des roten Blutes ergibt diese Gruppe der Versuche in einigen Fällen eine bedeutende Poikilocytose.

Bei intravenöser Einspritzung von 5 ccm 0,1% Chininlösung beobachtete man: 15 Min. nach Beginn des Versuchs in der Mehrzahl der Fälle Leukopenie mit Übergang (nach vierstündiger Zwischenzeit) in eine unbedeutende Leukocytose, oder Rückkehr zur anfänglichen Norm. Die leukocytäre Formel ergibt Verschiebungen in der Richtung eines unbedeutenden Anwachsens im Prozentverhältnis der Pseudoeosinophilen bei den meisten Versuchstieren. Nur in einem Fall überstieg die prozentuale Zunahme der Pseudoeosinophilen etwas bedeutender die Norm vor dem Versuch.

Außerdem kommen in einzelnen Gesichtsfeldern des Mikroskops Pseudoeosinophile mit Lysis und Pyknose des Kerns vor und gleichfalls vereinzelte Pseudoeosinophile mit reaktiver Körnigkeit des Protoplasmas. Vereinzelte Poikilocyten und Normoblasten vervollständigen das Bild dieses Ausstrichs.

Bei intravenöser Einführung von 5 ccm 0,1% Chininlösung bei Kaninchen, welche mit einer Quarzlampe im Laufe von zwei Stunden bestrahlt worden war, wird Leukocytose beobachtet, mit einem Maximum vier Stunden nach Beginn des Versuchs. Bei der Mehrzahl der Versuchstiere wird in der leukocytären Formel eine starke Vergrößerung der segmentierten Formen der Pseudoeosinophilen, eine prozentuale

Zunahme der Eosinophilen und gleichfalls eine bedeutende Zunahme der Monocyten, mit einem Maximum des Anwachsens vier Stunden nach Beginn des Versuchs vermerkt. In den Ausstrichen der vorliegenden Versuchsgruppe beobachtet man, nach Ablauf einiger Stunden nach Einführung des bestrahlten Chinins, das Erscheinen einer bedeutenden Menge von Pseudoeosinophilen mit Lysis des Kerns. In einigen Fällen erreicht dieselbe so hohe Grade, daß im Protoplasma der Pseudoeosinophilen nur unbedeutende Sprengelungen nachbleiben — die Überbleibsel des Kerns. Bei nahe in allen Pseudoeosinophilen kommt eine Körnigkeit zum Vorschein. Außerdem kommen in den Ausstrichen des Blutes dieser Gruppe bedeutende Mengen von Poikilocyten, Polychromatophilen und auch vereinzelte Normoblasten vor. Bei Bestrahlung der Kaninchen mit ultravioletem Licht, im Laufe von 40 Minuten, in einer Entfernung von 30 cm von der Lichtquelle, wurde bei den meisten Versuchstieren, 15—30 Min. nach der Bestrahlung eine bedeutende Leukocytose beobachtet. Diese Erscheinung war bei Tieren mit weißem Fell stärker ausgeprägt, besonders bei kurzhaarigen polnischen und unbedeutender bei weißen langhaarigen. Bei den übrigen Kaninchen war die nach der Bestrahlung aufgetretene Leukocytose schwächer ausgeprägt oder war garnicht vorhanden.

Die leukocytäre Formel veränderte sich in der Richtung einer Erhöhung des prozentualen Gehalts der segmentierten Pseudoeosinophilen, mit unbedeutender Zunahme der stäbchenkernigen Pseudoeosinophilen. Im weiteren gleichen sich die Veränderungen in der leukocytären Formel wieder aus, bis zu normalen Beziehungen zwischen den einzelnen Formen der Leukocyten.

Bei intravenöser Einführung von 1 ccm 0,1% Chininlösung und nachfolgender Bestrahlung der Kaninchen mit ultravioletem Licht im Laufe von 40 Min., in einer Entfernung von 30 cm von der *Bachschen* Lampe, wurden folgende Veränderungen im Blutbilde beobachtet: eine hochgradige Leukocytose, welche ihr Maximum vier Stunden nach der Bestrahlung erreichte. Am stärksten und in einem bedeutend höheren Grade als bei den Versuchstieren, welche ohne intravenöse Einführung von Chinin bestrahlt worden waren, war die Leukocytose bei Kaninchen mit weißem Fell ausgeprägt.

Die Veränderungen in der leukocytären Formel erreichen ihr Maximum vier Stunden nach der Bestrahlung. Sie kennzeichnen sich durch ein Anwachsen der Pseudoeosinophilen, bei Zunahme der stäbchenkörnigen und durch das Erscheinen von meistens jugendlichen Formen der Pseudoeosinophilen und auch durch eine Vergrößerung der prozentualen Eosinophilenzahl. In den Ausstrichen des Blutes dieser Versuchsreihe kommen auch vereinzelte *Türcksche* Reizzellen, Poikilocyten und in bedeutender Menge Pseudoeosinophilen im Anfangsstadium der Kernlysis vor.

Eine intravenöse Einspritzung einer schwachen Eosinlösung, in kleinen Gaben, welche ich anwandte, ruft bei einigen Tieren im Anfang des Versuches eine Leukopenie hervor, welche allmählich in eine unbedeutende Leukocytose übergeht. In einer Reihe von Versuchen gelang es jedoch nicht eine Leukopenie zu beobachten. In diesen Fällen entwickelte sich eine unbedeutende Leukocytose.

In der leukocytären Formel dieser Versuchsreihe wird nur eine prozentuale Zunahme der segmentierten Pseudoeosinophilen vermerkt. Diese Veränderung ist jedoch nicht von langer Dauer und verschwindet nach Verlauf von 24 Stunden nach dem Beginn des Versuches.

Das Blutbild, bei intravenöser Einspritzung 1 ccm 0,01% Eosinlösung, welche vorher mit einer Quarzlampe, im Laufe von zwei Stunden, in einer Entfernung von 30 cm von der Lichtquelle bestrahlt worden war, ergibt folgende Besonderheiten: 15 Min. nach Beginn des Versuches entwickelt sich bei der Mehrzahl der Tiere eine Leukocytose, welche ihre höchsten Ziffern nach Verlauf von vier Stunden nach der Einführung des bestrahlten Eosins erreicht. Die Leukocytose dauert bei einigen Versuchstieren 24 Stunden an und erreicht ihren Höhepunkt erst 24 Stunden nach Beginn des Versuches. In der leukocytären Formel wird eine bedeutende Zunahme der pseudoeosinophilen Leukocyten beobachtet, mit Anwachsen der stäbchenartigen Formen. Die Vergrößerung des Hundertsatzes der Pseudoeosinophilen erreicht ihren Höhepunkt erst vier oder 24 Stunden nach Beginn des Versuches. In einigen Fällen wurde eine Zunahme des Prozents der Monocyten und eine Vergrößerung der eosinophilen Leukocyten, im Vergleich mit der Norm vor dem Versuch beobachtet. In einzelnen Gesichtsfeldern des Mikroskops werden auch Pseudoeosinophile mit Kernlysis, vereinzelte *Türcksche* Zellen, Normoblasten und Poikilocyten angetroffen.

Bei Bestrahlung der Kaninchen mit ultravioletter Strahlenenergie, nach vorhergehender Einführung von 1 ccm einer 0,01% Eosinlösung, wird ein Bild beobachtet, welches im allgemeinen dem Blutbild bei Einführung von Eosin, welches vorher mit einer Quarzlampe bestrahlt worden war, ähnlich ist. Das Blutbild, welches diese Versuchsreihe darbietet, ist folgendes: Kurzdauernde, aber bedeutende Leukocytose, eine Vergrößerung der Pseudoeosinophilenzahl und in einigen Fällen gleichfalls eine Zunahme der eosinophilen Zellen und der Monocyten, das Erscheinen einer Körnelung des Protoplasmas der Pseudoeosinophilen, das Erscheinen einer Poikilocytose und vereinzelte Normoblasten.

Die Reaktion der weißen Kaninchen ist auch in den vorliegenden Versuchen, bei Bestrahlung mit einer Quarzlampe bedeutend stärker ausgeprägt als bei Kaninchen mit einer anderen Färbung des Felles.

Die Kontrollgruppe zeigt das Bild der Weißblutschwankungen im Laufe einer Woche dar.

Zusammenfassung.

1. Die gleichzeitige Einführung von Chininlösungen, welche vorher mit einer Quarzlampe bestrahlt worden waren, wirkte auf die Veränderung des weißen Blutbildes (vorübergehende Leukopenie, folgende Leukocytose, Linksverschiebung, Vermehrung der Pseudoeosinophilen) bedeutend stärker ein, im Vergleich mit den Vergleichskaninchen.

2. Die Ergebnisse der Kontrollbestrahlung der Tiere mit einer Quarzlampe stimmen mit den Befunden *Königsfelds* und *Lippmanns* überein.

3. Die vorhergehende Sensibilisation der Kaninchen vermittelt Chininlösung (intravenös), bei nachfolgender Bestrahlung der Tiere mit einer Quarzlampe, ruft gleichfalls eine stärkere Reaktion hervor, im Vergleich mit den Kontrollversuchen.

4. Die oben angegebenen Befunde beziehen sich gleichfalls auf die kombinierte Wirkung von Eosin + ultraviolett Licht auf die Versuchstiere.

5. In den Versuchen mit Bestrahlung der Tiere vermittelt einer Quarzlampe und zu solchen mit vorheriger Sensibilisation der Tiere durch photoaktive Stoffe, und nachfolgender Bestrahlung derselben mit einer Quarzlampe, wurden bedeutendere Veränderungen des weißen Blutbildes bei Tieren mit weißer Farbe des Fells beobachtet.

Schrifttum.

- ¹ *Dognon, A.*: C. r. Soc. Biol. Paris **98**, No 1, 21 (1928); **98**, No 4, 283 (1928). —
² *Bates, John R. and Hugh. S. Taylor*: J. amer. chem. Soc. **49**, Nr 10, 2438 (1927). —
³ *Bisceglie, Vincenzo*: Bull. Soc. med.-chir. Modena **28**, H. 1, 15 (1927); Ber. Physiol. **45**, 445 (1928). — ⁴ *Sugano, Hayaschi*: Fol. jap. pharmacol. **2**, H. 2, 165 (1927); Ber. Physiol. **44**, 337 (1928). — ⁵ *Girard, Pet. E. Peyre*: Internat. Physiol. Kongr. Stockholm, 3.—6. Aug. 1926. — ⁶ *Farbre, Rene et Henri Simonnet*: J. Pharmacie **4**, Nr 7. — ⁷ *Lakschewitz*: Mschr. Kinderheilk. **34**, H. 2, 159 (1926). —
⁸ *Vanagida, Taizo*: Nagoya J. med. Sci. **2**, Nr 2, 124 (1927). — ⁹ *Tappeiner*: Münch. med. Wschr. **1900**, Nr 1; Dtsch. Arch. klin. Med. **82**, (1905); Z. Biol. **39** (1900); Chem. Ber. **38** (1905). — ¹⁰ *Viale, Gaetano*: Arch. di Fisiol. **22**, H. 1, 61 (1924). —
¹¹ *Smetana, H.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **24**, Nr 9, 821 (1927). — ¹² *Schläpfer*: Zit. nach *Haußmann*. — ¹³ *Malasserz*: Zit. nach *Froloff*. — ¹⁴ *Kestner, O.*: Mensch., Strahlung und Klima. Strahlenther. **28**, H. 1 (1928). — ¹⁵ *Lenkei*: Z. physik. u. diät. Ther. **8**, 396 (1928). — ¹⁶ *Riedel*: Strahlenther. **12**, H. 2 (1921). — ¹⁷ *D'Oelsnitz*: Ref. in Strahlenther. **1**, H. 4. (1916). — ¹⁸ *Oerum*: Pflügers Arch. **114**, H. 1/2 (1906). — ¹⁹ *Aschenheim*: Zit. nach *Haußmann*. — ²⁰ *Ramain*: Zit. nach *Ratner* (russ.). — ²¹ *Königsfeld*: Zit. nach *Froloff* (russ.). — ²² *Lippmann*: Lichttherapie innerer Krankheiten. Lehrbuch der Strahlentherapie, herausgeg. von *H. Meyer*, Bd. 3. Berlin-Wien 1926.