

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. med. W. BÜNGELER) und dem Pharmakologischen Institut der Universität (Direktor: Prof. Dr. med. B. BEHRENS).

Patho-physiologische Studie zum Problem der lokalen Erfrierung.

Von

WALTER DONTENWILL und GERHARD ZETLER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Juli 1952.)

In vorangegangenen Arbeiten haben wir die Frage der Pathogenese der lokalen Kälteschädigung ausführlich diskutiert. Ausgehend von den Zusammenhängen zwischen Blutgerinnung, Histaminwirkung und lokaler Erfrierung (ZETLER^{1, 2}) konnten wir am Kaninchenohr zeigen, daß allgemeine Vorbehandlung mit einem Antihistaminicum die Folgen lokaler Erfrierung eindeutig vermindert (ZETLER^{3, 4}); im Experiment zeigten Antihistaminica nicht nur diesen prophylaktischen, sondern auch einen therapeutischen Effekt (FROMMEL und PIQUET⁵). Die Ergebnisse, nach welchen dem Histamin eine entscheidende Rolle zukommt, wurden ergänzt durch die Arbeiten von DONTENWILL und ROTTER⁶ sowie DONTENWILL⁷, die ihr Augenmerk besonders auf die im Rahmen der lokalen Erfrierung auftretenden pathologischen Gefäßreaktionen richteten. Sie zeigten (am Kaninchenohr) die Bedeutung der durch lokale Kälteschädigungen ausgelösten Gefäßreaktionen, da die Vorbehandlung mit Antistin die Durchblutung des geschädigten Bezirkes auffallend verbesserte.

Hält man an der Hypothese von der zentralen Bedeutung des Histamins für das Zustandekommen der lokalen Kälteschädigung fest, so erhebt sich die Frage, welche der Histaminwirkungen dabei entscheidend ist und ob außerdem eine direkte Einwirkung der Kälte auf die Gefäßwand vorkommt. Von den akuten lokalen Erfrierungsfolgen, die auf Histamin zurückgeführt werden können, stehen im Vordergrund das mächtige lokale und kollaterale Ödem (ZETLER^{3, 4}), sowie die Vasoconstriction (DONTENWILL und ROTTER⁶; DONTENWILL⁷). Am Kaninchenohr wirkt Histamin auf Arterien und Arteriolen verengend, auf Capillaren erweiternd. Wir stellten uns die Aufgabe, Gefäßreaktion und Membranschädigung nach Erfrierung sowie ihre Beeinflussung durch allgemeine Vorbehandlung mit einem Antihistaminicum gleichzeitig zu verfolgen. Unsere bisherigen, mit fast gleicher Methodik gewonnenen Ergebnisse konnten wir aus folgenden Gründen nicht kombinieren:

Nach ZETLER^{3, 4} entstehen bei gleichen Kältegraden durch das Zeitmoment sog. „Frierdosen“; nur Werte, die unter Standardbedingungen (gleiche Temperatur, Frierdauer und gefrorene Fläche; direkte Anwendung von CO₂-Schnee oder aber des Apparates von SPERANSKY⁸) gewonnen wurden, können verglichen werden. Die Blutgefäßverhältnisse zeigten ferner in unseren früheren Versuchen (DONTENWILL und ROTTER⁶ sowie DONTENWILL⁷) schon innerhalb der ersten 20—30 min nach dem Gefrieren einschneidende Änderungen, das lokale Ödem entwickelte sich viel langsamer, so daß ZETLER^{3, 4} erst nach 30 min die erste Messung vornahm. Durch intravenöse Anwendung von Fluorescein und Beobachtung des Kaninchenohres im durchfallenden UV-Licht gelang es, die schnellen Änderungen der lokalen Membranpermeabilität befriedigend sichtbar zu machen und gleichzeitig die Gefäßreaktionen zu registrieren.

Dabei stützten wir uns auf die Arbeiten folgender Autoren: KREYBERG und ROTNES¹⁴ injizierten als erste bei der Untersuchung der experimentellen lokalen Erfrierung Farbstoffe intravenös, LANGE und BOYD¹⁵ führten für diese Zwecke das Fluorescein ein. BUKANTZ und DAMMIN⁹ zeigten am Menschen und am Hund, daß intracutane Histaminquaddeln nach intravenöser Fluoresceingabe im Ultraviolettsicht fluorescieren; Antihistaminica modifizierten die Zeit bis zum Auftreten der Fluorescenz sowie ihre Intensität und Dauer. Mit Hilfe der Farbstoffmethode untersuchte KREYBERG¹⁶ vorwiegend spätere Stadien der akuten lokalen Erfrierung.

Methodik.

In Vorversuchen wurde je 0,1 ml einer Histaminlösung 1:1000 und 1:100 links und rechts von der Zentralarterie des Kaninchenohres intra- und subcutan injiziert. Gleich darauf verabreichten wir 0,8 ml 5%iger Fluorescein-Na-Lösung in 5%iger NaOH intravenös am anderen Ohr. Die Erscheinungen in dem mit Histamin injizierten Gebiet wurden sofort in durchfallendem UV-Licht beobachtet. Die enthaarten Ohren von 20 durchschnittlich 2 kg schweren Kaninchen wurden zwischen oberem und mittlerem Drittel mittels der Gefrierdüse von SPERANSKY⁸ in einer Fläche von 4,5 cm² 1 min lang so gefroren, daß die Zentralarterie des Ohres genau durch den gefrorenen Bezirk lief; bei 10 von diesen Kaninchen verabreichten wir 20 min vor dem Frieren je 45 mg/kg „Antistin“* intramuskulär. Sofort nach dem Frieren erfolgte die intravenöse Injektion von Fluorescein und Beobachtung der Blutgefäße sowie der Fluorescenz im gefrorenen Gebiet (Benutzung einer Stoppuhr). Die Methode der statistischen Auswertung wurde in einer vorangegangenen Arbeit geschildert (ZETLER⁴).

Ergebnisse.

Nach BUKANTZ und DAMMIN⁹ fluoresciert zwar beim Menschen und beim Hund die intracutane Histaminquaddel, nicht aber beim Kanin-

* Warenzeichen der Firma CIBA-A.G. für 2-(N'-Phenyl-N'-benzylamino-methyl)-imidazolin. Wir danken der Firma für die freundliche Überlassung von Versuchsmengen des Antihistaminicums.

chen. Bei unseren Vorversuchen sahen wir nach Histamin 1:1000 keine, nach Histamin 1:100 nur sehr schwache Fluoreszenz, die im Gegensatz zu den weiter unten geschilderten Gefrierversuchen erst sehr spät (nach etwa 15 min) auftrat. Die Gefäßverengung war jedoch sehr deutlich und lange anhaltend.

Die lokalen Reaktionen der Blutgefäße auf die Erfrierung deckten sich in unseren Versuchen völlig mit unseren früheren Beobachtungen (DONTENWILL und ROTTER⁶ sowie DONTENWILL⁷), so daß hier eine kurze Schilderung genügen mag: Sofort nach dem Gefrieren, also noch während das gefrorene Gebiet bretthart war, war die Zentralarterie vor und hinter dem Gefrierbezirk maximal kontrahiert. Nach dem Auftauen durchlief die Gefäßreaktionen im gefrorenen Gebiet sowie der ein- und austretenden Arterie vom totalen Spasmus ausgehend, eine Reihe von Stadien, deren Details für unsere Fragestellung von geringerer Bedeutung sind. Als Maß für die Normalisierung der Gefäßverhältnisse wählten wir die Zeitdauer bis zum Auftreten der ungehinderten Passage des Blutstroms durch die Zentralarterie, wobei gefordert war, daß die lokalen Spasmen der Zentralarterie am oberen und am unteren Rande des gefrorenen Gebietes verschwunden sein mußten. Wie nach den oben zitierten Arbeiten zu erwarten, verminderte die allgemeine Vorbehandlung mit Antistin die pathologischen Gefäßreaktionen in eindrucksvoller Weise; die Spasmen traten in geringeren Maße auf und verschwanden sehr schnell wieder. Tabelle 1 zeigt, wie schnell sich die normale Durchblutung wiederherstellte; die Differenzen der Mittelwerte sind voll signifikant für eine Sicherheitsgrenze von 0,27%, so daß man von einer günstigen Wirkung des Antihistaminicums sprechen kann.

Durch das Gefrieren wurde Fluoreszenz im gefrorenen Gebiet ausgelöst, die weitaus stärker war, als wir es nach unseren Vorversuchen mit Histamin erwartet hatten. Bereits wenige Minuten nach dem Ende des Frierens zeigte sich der erste gelb fluoreszierende Schimmer (das übrige Ohr erscheint im UV-Licht blau). Unmittelbar nach den ersten Zeichen beginnender Durchblutung begann die Fluoreszenz im gefrorenen Gebiet, und zwar regelmäßig ausgehend von den arteriellen Gefäßen, so

Tabelle 1. Zeit (in Minuten) vom Beginn des Frierens (1 min) bis zur Normalisierung der Durchblutung der Zentralarterie des Kaninchenohres nach lokaler Erfrierung.

Nr.	Ohne Antistin min	Nr.	Mit Antistin min
1	18,0	11	8,0
2	22,0	12	7,5
3	22,0	13	8,0
4	21,0	14	6,0
5	30,0	15	8,5
6	23,0	16	2,5
7	25,0	17	10,0
8	26,0	18	10,5
9	21,0	19	11,0
10	21,0	20	10,5
Mittel:	22,9		8,25
$\pm \varepsilon$:	1,06		0,76

ε = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

daß sich nicht selten vorübergehend Bilder fleckig verteilter Fluorescenz einstellten. Langsam nahm die Fluorescenz weiter zu, bis schließlich nach 20—25 min das zunehmende Ödem des Gewebes die Bilder trübte.

Die Fluorescenz blieb jedoch nicht auf das gefrorene Gebiet beschränkt, sondern überschritt es besonders am unteren Pol (Abb. 1) und erstreckte sich auch auf die nähere Nachbarschaft der zuführenden Arterie und

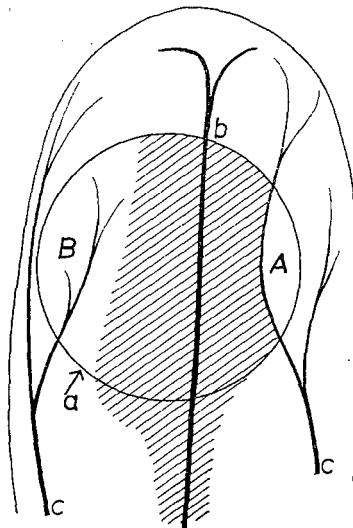
derjenigen Venen, die das Blut aus dem gefrorenen Bezirk ableiten. Die Fluorescenz um den unteren Teil der Zentralarterie trat häufig früher als im gefrorenen Gebiet ein, und zwar bereits im Stadium der hochgradigen spastischen Kontraktion der Arterie. Der untere Pol des runden Friergebietes zeichnete sich dadurch aus, daß einmal hier der Spasmus der Arterie besonders lang andauerte („Grenzspasmus“) und ferner die Fluorescenz an der Grenze des gefrorenen Bezirkes besonders stark und frühzeitig auftrat und das Friergewebe überschritt.

Es scheint uns besonders wichtig zu sein, daß die Fluorescenz ihren Ausgang vom arteriellen System nahm. Abb. 1 zeigt einen vorübergehenden Zustand während der Entwicklung der Fluorescenz, der etwa 10 min lang deutlich ausgeprägt war. Areal B fluorescierte überhaupt

Abb. 1. Ohr des Kaninchens Nr. 9 etwa 10 min nach dem Ende des Gefrierens. a Grenze des gefrorenen Gebietes, b Zentralarterie, c Vene. A: Gebiet zeigt nur ganz schwache Fluorescenz, B: Gebiet zeigt keine Fluorescenz. Schraffierung: Starke Fluorescenz. Die Fluorescenz nimmt ihren Ausgang vom arteriellen System.

nicht, Areal A nur ganz schwach, während die ausgesprochene Fluorescenz andererseits am unteren Pol das Friergebiet bereits überschritten hatte. Der dargestellte Zustand ist nur mit einer Ausbreitung der Fluorescenz vom arteriellen System her zu erklären.

Angesichts der bekannten membranabdichtenden Wirkung der Antihistaminica (Zusammenfassung bei HAAS¹⁰) erwarteten wir nach Antistin eine Verminderung der Fluorescenzerscheinungen, die sich jedoch zu unserer Überraschung im gefrorenen Bezirk eindrucksvoll verstärkten. Abb. 2 zeigt klar, daß nach Antistin (Kurve B) das Fluorescenz viel schneller aus der Blutbahn in die Gewebe übergeht als nach Frieren ohne Antistin (Kurve A). Daß ohne Antistin die Fluorescenz nicht auch schließlich die maximale Stärke der Kurve B erreichte, liegt daran, daß nach 20—25 min durch das stark zunehmende lokale Ödem



das Fluoreszenzbild getrübt und abgeschwächt wurde. Die eben geschilderten Verhältnisse betreffen nur den gefrorenen Bezirk. Gewissermaßen im Gegensatz zu der eben geschilderten Zunahme überschritt die Fluoreszenz nie die Grenzen des Friergebietes und war an der zuführenden Zentralarterie wie auch an den ableitenden Venen in keinem Falle nachweisbar.

Bei Anwendung der Korrelationsrechnung auf unsere Befunde ergab sich ein echter Zusammenhang zwischen dem Grad der Durchblutung

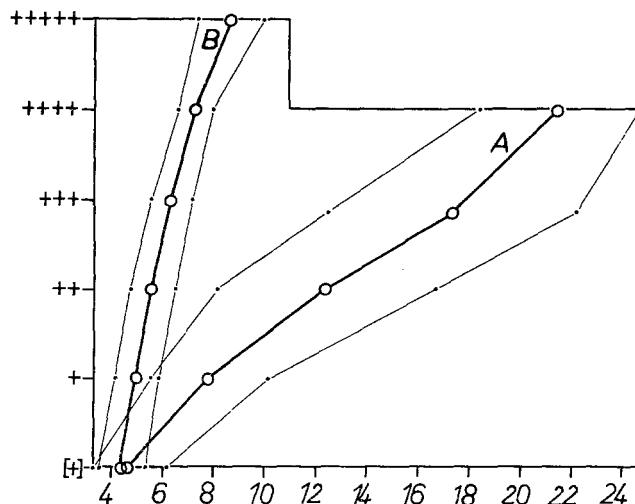


Abb. 2. Die Geschwindigkeit der Fluoreszenzentwicklung ist nach Frieren mit Antistin (Kurve B) größer als nach Frieren ohne Antistin (Kurve A). Jede Kurve umfaßt 10 Kaninchen. Für jeden Punkt der Kurve ist der 3fache mittlere Fehler des Mittelwertes eingezeichnet. Ordinate: Stärke der Fluoreszenz, Abszisse: Zeit in Minuten nach Beginn des Frierens (Dauer 1 min).

und der Geschwindigkeit der Fluoreszenzentwicklung (gefunder Korrelationskoeffizient $r = 0,665$; für unser Material und für eine Sicherheitsgrenze von 0,27% beträgt der gültige Zufallshöchstwert 0,62).

Diskussion.

Man hätte nach den eingangs geschilderten Tatsachen und Ansichten erwarten sollen, daß ein Antihistaminicum den Übertritt von Fluorescein aus der Blutbahn in das kältegeschädigte Gewebe hemmt. Dies war auch außerhalb des eigentlichen gefrorenen Bezirkes an der zuführenden Zentralarterie und den ableitenden Venen der Fall. Die scheinbar paradoxen Verhältnisse im gefrorenen Areal lassen sich folgendermaßen erklären: Die Permeation von Fluorescein aus der Blutbahn ins Gewebe hängt ab von der Permeabilität der Membranen und von der Größe des Blutstromes, der das Konzentrationsgefälle des permeierenden Stoffes diesesseits und jenseits der Membranen bestimmt. Nach der Erfrierung

sind zwar die Membranen geschädigt und durchlässiger geworden; wegen des auf Grund der arteriellen Spasmen gleichzeitig vermindernten Blutangebotes dringt jedoch das Fluorescein nur langsam in das Gewebe. Nach Antistin kommt es gewissermaßen zu einem Wettbewerb zwischen Membranabdichtung und verbesserter Blutversorgung; hielten sich diese beiden Momente die Waage, so würde sich an dem Verhalten der Fluorescenz trotz allgemeiner Besserung der Verhältnisse nichts ändern. In unserem Falle muß demnach die Verbesserung der Durchblutung nach Antistin ganz bedeutend überwiegen, denn die Fluorescenz nimmt erheblich zu trotz verminderter Permeabilität (ZETLER^{3, 4} fand, daß durch Vorbehandlung mit derselben Antistindosis lokales und kollaterales Ödem sowie die Blasenbildung an der Frierstelle um etwa 50% abnahmen). Da außerhalb des gefrorenen Gebietes der Blutkreislauf weniger gestört war, überwog dort — wenigstens bei den ableitenden Venen (s. unten) — das Bild der Membranabdichtung.

Daraus geht hervor: Ohne Kenntnis und Berücksichtigung der örtlichen Kreislaufverhältnisse erlaubt die von uns angewandte Fluorescenzmethode keine richtigen Schlüsse auf die Permeabilität der Membranen. Ferner muß angenommen werden, daß die prophylaktische und therapeutische Wirkung der Antihistaminica gegenüber der lokalen Erfrierung zu einem sehr großen Teil auf einer Verbesserung der Blutversorgung beruht; daraus wieder ergibt sich, daß die Ischämie von entscheidender Bedeutung für die Entstehung der Kältenekrose ist, was schon von älteren Autoren behauptet und von uns selbst erneut betont wurde. Es kann jedoch nicht gefolgert werden, daß Antistin ausschließlich auf dem Wege des Antagonismus gegenüber Histamin die Durchblutung (beim Kaninchen) verbessert; es ist zu bedenken, daß die Antihistaminica auch Spasmolytica sind und daß sie auch das vegetative Nervensystem beeinflussen können (HAAS¹⁰).

Daß die Fluorescenz beim Kaninchen im Gegensatz zu Hund und Mensch (BUKANTZ und DAMMIN⁹) so verschwindend gering ist, kann damit erklärt werden, daß beim Kaninchen die Gefäßkontraktion nach Histamin (bei Mensch und Hund Gefäßdilatation) die Folgen einer gleichzeitigen Permeabilitäts erhöhung aufhebt. Würden die Erscheinungen im gefrorenen Bezirk nur auf Histamin zurückzuführen sein, so hätte die Gefäßverengung viel länger anhalten und die Fluorescenz langsamer eintreten müssen. Einmal könnte der starke direkte Kältereiz die Empfindlichkeit der glatten Gefäßmuskulatur für Histamin vermindern oder aufheben, andererseits ist Histamin nicht der einzige vasoaktive körpereigene Stoff, den die Kälteschädigung in Freiheit setzt. Die reaktive Hyperämie jedenfalls kommt außer durch Histamin und Acetylcholin wahrscheinlich auch durch Adenosintriphosphorsäure zustande (FOLKOW, HAEGER und KAHLSON¹¹).

Der ausgiebige Spasmus des unteren, von der Erfrierung nicht direkt betroffenen Teiles der Zentralarterie dürfte durch Axonreflexe zustande kommen, die von der Kälte (vielleicht durch Vermittlung von Histamin) ausgelöst werden, da Histamin als ein Initiator von Axonreflexen anzusehen ist (PARROT und LEFEBVRE, zitiert nach AMBACHE¹²). Die frühzeitige Fluorescenz um die verengte Zentralarterie außerhalb des Frierbezirkes ist nicht auf eine Steigerung der Permeabilität zurückzuführen, vielmehr dürfte der vermehrte Innendruck im Gefäß genügen, um das Fluorescein abzupressen. Damit wäre auch die besonders starke Fluorescenz am unteren Pol des Friergebietes zu erklären, da hier der Spasmus der Arterie am längsten andauerte. Antistin würde dann mit der Verminderung des Arterienspasmus auch die Auswanderung von Fluorescein automatisch unterbinden. In der Tat trat nach Antistin trotz gesteigerter Fluorescenz innerhalb des Frierbezirks der untere Pol nicht mehr besonders in Erscheinung. Die Fluorescenz der ableitenden Venen wurde sicherlich durch Histaminschädigung der Membran-dichte erzeugt; zeigt doch die allgemeine Verkürzung der Blutgerinnungszeit, die nach lokaler Erfrierung im ganzen Körper nachweisbar und auf Histamin zurückzuführen ist, daß tatsächlich das Histamin aus dem Frierbezirk durch den Blutstrom abtransportiert wird (ZETLER¹⁻⁴).

Einige Zeit nach dem Ende des Gefrierens tritt eine auffallende Blutfülle in dem betroffenen Gebiete ein, so daß dort etwa nach 10 bis 15 min die Temperatur höher als im Areal liegt (DONTENWILL und ROTTER⁶, DONTENWILL⁷). TITTEL¹³, der sich eingehend mit den Gefäßreaktionen nach lokaler Erfrierung befaßt hat, führt diese Blutfülle auf einen Einstrom des Blutes über die Capillaren und Anastomosen aus der Randzone zurück. Gegen diese Auffassung spricht unsere Beobachtung der Ausbreitung der Fluorescenz vom arteriellen Blutgefäßsystem des gefrorenen Gebietes selbst her (vgl. Abb. 1!).

Zusammenfassung.

1. Durch Beobachtung des Übertritts von Fluorescein aus der Blutbahn in die Gewebe wurde die Koordination von Kreislauf- und Permeabilitätsstörung unmittelbar nach umschriebener örtlicher Erfrierung des Kaninchenohres untersucht.
2. Nach allgemeiner Vorbehandlung mit einem Antihistaminicum normalisierten sich die Gefäßreaktionen weitaus schneller, die Fluorescenz im gefrorenen Gebiet war jedoch wider Erwarten verstärkt, während sie außerhalb des Frierbezirkes ausblieb.
3. Die Stärke der Fluorescenz ist die Resultante aus der Durchblutungsgröße und dem Permeabilitätsgrad der Membranen.

4. Demnach dominiert die günstige Wirkung des Antihistaminicums auf die Durchblutung des kältegeschädigten Gebietes über die permeabilitätsvermindernde Komponente.

5. Man wird also einen großen Teil der prophylaktischen und therapeutischen Wirkung der Antihistaminica gegenüber der lokalen Erfrierung auf ihre Wirkung auf die Durchblutung der Gewebe zurückführen müssen.

6. Daraus kann geschlossen werden, daß die Ischämie jedenfalls beim Kaninchen eine entscheidende Rolle beim Zustandekommen des lokalen Kälteschadens spielen muß; Histamin gewinnt dabei seine pathogenetische Bedeutung in erster Linie durch seine beim Kaninchen vasoconstrictorische Wirkung. Die lokale Reaktion des Blutgefäßsystems nach lokaler Erfrierung des Kaninchenohres kann jedoch nicht einseitig als Histaminwirkung gedeutet werden.

Literatur.

- ¹ ZETLER, G.: Klin. Wschr. **1951**, 255. — ² ZETLER, G.: Arch. exper. Path. Pharmakol. **213**, 18 (1951). — ³ ZETLER, G.: Naturwiss. **38**, 286 (1951). — ⁴ ZETLER, G.: Arch. exper. Path. Pharmakol. **214**, 316 (1952). — ⁵ FROMMEL, ED., et PIQUET: Arch. internat. Pharmacodynamie **73**, 96 (1946). — ⁶ DONTENWILL, W., u. W. ROTTER: Virchows Arch. (im Druck). — ⁷ DONTENWILL, W.: Virchows Arch. (im Druck). — ⁸ SPERANSKY, A. D.: Grundlagen einer Theorie der Medizin. Berlin 1950. — ⁹ BUKANTZ, S. C., and G. I. DAMMIN: Science (Lancaster, Pa.) **107**, 224 (1948). — ¹⁰ HAAS, H.: Histamin und Antihistamine. Aulendorf, Württ. 1951. — ¹¹ FOLKOW, HAEGER u. KAHLSON: Zit. nach HAAS. — ¹² AMBACHE, N.: J. of Physiol. **110**, 164 (1949). — ¹³ TITTEL, S.: Z. exper. Med. **113**, 699 (1944). — ¹⁴ KREYBERG, L., et P. ROTNES: C. R. Soc. Biol. Paris **106**, 895 (1931). — ¹⁵ LANGE, K., and L. J. BOYD: Surg. etc. **80**, 346 (1945). — ¹⁶ KREYBERG, L.: Avh. Norske Vidensk. Akad. Oslo, Mat.-Nat. Kl. I. **1948**, Nr 5. — Physiologic. Rev. **29**, 156 (1949).

Dr. med. WALTER DONTENWILL,
Pathologisches Institut der Universität Kiel, Hospitalstraße 42.

Dr. med. GERHARD ZETLER,
Pharmakologisches Institut der Universität Kiel, Hospitalstraße 20.