

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn
(Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL).

Über ringkernige Gewebsleukocyten im Genitaltrakt der Ratte und ihren Zusammenhang mit weiblichen Sexualhormonen.

Von

H. GANSLER.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Dezember 1953.)

Es ist seit langem bekannt, daß im lockeren Bindegewebe von Meerschweinchen, Ratte und Maus schon normalerweise eigentümliche Zellen vorkommen, die als „Gewebsleukocyten“ von anderen Leukocyten unterschieden werden. Sie enthalten eine wechselnde Menge eosinophiler Körnchen, die auch oxydasepositiv sind. Wie v. MÖLLENDORF an Häutchenpräparaten nachgewiesen hat, entstehen diese Zellen aus dem Fibrocytennetz (s. Abb. 1): Zuerst erkennt man ein kleines zentrales Loch im Fibrocytenkern, das immer größer wird, so daß der Kern einen stärker färbaren Ring bildet. An diesem Ring treten dann mehrfach Einkerbungen auf, bis schließlich eine besonders tiefe Einkerbung den Ring durchschnürt und aufbricht. Der jetzt vorliegende dichte und durch die Einkerbungen segmentierte Kern entspricht durchaus dem eines polymorphkernigen Leukocyten; bei Vorhandensein reichlicher eosinophiler Körnchen kann die Zelle auch einem eosinophilen Leukocyt gleichen, daher die Bezeichnung Gewebsleukocyt oder pseudo-eosinophiler Leukocyt. Das weitere Schicksal der Zellen ist verschieden: entweder kondensiert sich der Kern immer mehr, wird pyknotisch, und die Zelle geht unter Kernzerfall zugrunde, oder sie wird zu einer Dauerform, die im Bindegewebe liegenbleibt. Da das am meisten kennzeichnende Stadium dieses Entwicklungsganges dasjenige mit einem noch geschlossenen Ringkern ist, wollen wir diese Zellen im folgenden als ringkernige Zellen (RZ) bezeichnen.

Anlässlich anderer Versuche war aufgefallen, daß die Menge der RZ im lockeren Bindegewebe der Ratte besonders im Uterus eine gewisse Abhängigkeit von der Cyclusphase zeigte. Es galt also, wenn möglich, diesen Zusammenhang genauer zu erfassen und auch experimentell zu untermauern.

Untersucht wurden 148 weibliche Albino-Ratten eines Inzuchtstammes, bei denen täglich Vaginalabstriche gemacht und nach dem Schema von LONG und EVANS bewertet wurden. Das Alter der Tiere lag zwischen 2 und 6 Monaten, ihr Gewicht zwischen 100 und 250 g. Die Tiere wurden durch Dekapitieren getötet, der Genitaltrakt mit dem umgebenden lockeren Bindegewebe in CARNOYScher

Flüssigkeit fixiert und an Paraffinserienschnitten untersucht. In den Tabellen der einzelnen Versuchsreihen ist jeweils die Menge der RZ an drei untersuchten Stellen des Genitaltraktes aufgeführt: im Querschnitt durch die obersten Abschnitte der Vagina, die hier zwei getrennte Lichtungen aufweist („Vagina doppelt“); ferner in Höhe des Uterus, wo beide Hörner noch von einer gemeinsamen Muskelschicht umgeben sind („Uterus doppelt“) und schließlich noch in der mittleren Höhe eines Uterushornes („Uterus einfach“).

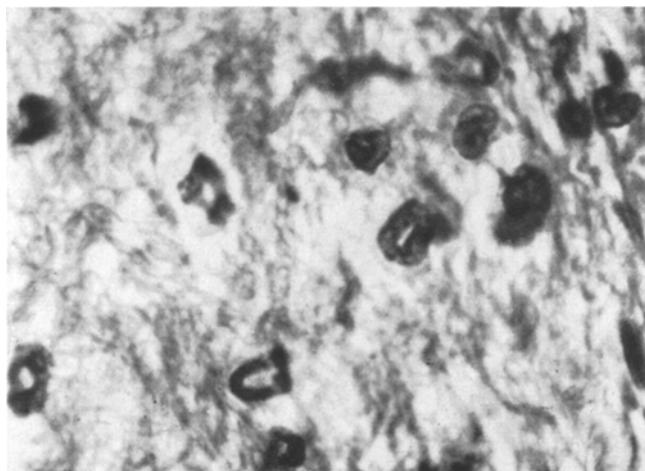


Abb. 1. Verschieden stark ausgebildete Lochkerne in Gewebsleukocyten aus dem braunen Fettgewebe der Ratte (Tier 183).

Eigene Befunde.

Versuch 1. 49 unbehandelte Weibchen (s. Tabelle 1). Die hier in der Tabelle angegebene Bewertung mit + bis +++ kann natürlich nur einen Durchschnitt durch die Befunde bei allen Tieren einer Cyclusphase darstellen. Auch haftet ja der Bestimmung der Cyclusphase insofern etwas Willkürliches an, als schwer festzustellen ist, ob eine Oestrusphase gerade am Beginn oder am Ende ist. Bei all diesen individuellen Verschiedenheiten und Unsicherheiten im Einzelfalle ist es doch auffällig, daß sich trotzdem ein so gleichförmiges Bild hinsichtlich

Tabelle 1.

Cyclusphase	Zahl der Tiere	Vagina doppelt	Uterus doppelt	Uterus einfach
Pooestrus	8	++ bis +++)	+++	++ bis +++)
Oestrus	15	+++	++ bis +++)	++
Metoestrus	9	++ pyknotisch	+ bis ++ pyknotisch	+ nur Mucosa pyknotisch
Dioestrus	2	+	+	+
Infantile	7	—	—	—
Schwangere	8	—	—	—

der Schwankungen der RZ in Anhängigkeit vom Cyclus ergibt: Die meisten RZ (+++) finden sich bei allen Tieren an allen drei untersuchten Stellen des Uterus und der Vagina im Prooestrus und Oestrus, im Metoestrus werden sie spärlicher, am spärlichsten sind sie im Dioestrus. Met- und Dioestrus-Tiere kann man in einer Gruppe zusammenfassen, da histologisch ein reiner Dioestrus sehr selten ist, dagegen häufig ein später Metoestrus.

Die RZ liegen immer *in der Muscularis im lockeren Zwischengewebe* (s. auch Abb. 2), aus dessen Zellen sie ja hervorgehen, und *in der*

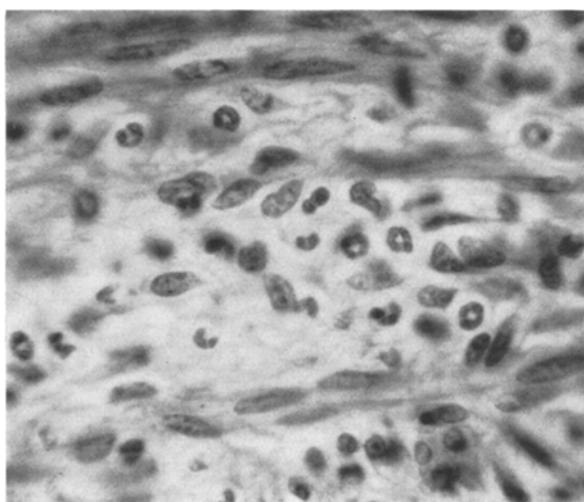


Abb. 2. Ziemlich reichlich ringkernige Leukocyten im Zwischengewebe der Uterusmuskulatur (Tier 906).

Submuscosa. Hier sind sie im Metoestrus noch reichlich vorhanden, während sie in den Muskelschichten schon ganz spärlich sind. Man sieht im Metoestrus derartige Zellen mit stark pyknotischen Kernen; einzelne solcher Zellen mit pyknotischen und segmentierten Kernen finden sich auch in der Uteruslichtung, in die sie offenbar durchgewandert sind.

Bemerkenswert ist, daß bei *infantilen* und *schwangeren* Tieren alle Abschnitte frei von RZ sind.

Zusammenfassend kann man also aus diesem Versuch entnehmen, daß die Menge der RZ in der Wand des Uterus und der Vagina eine deutliche *Abhängigkeit von Funktion und Cyclusphase* aufzuweisen scheint. Um einen solchen Zusammenhang zu beweisen, ist es also nötig, die Funktionsphase des Uterus künstlich zu beeinflussen und dann die Menge der RZ zu bestimmen, wie das in den folgenden Versuchen geschah.

Tabelle 2.

Tagen nach der Kastration getötet	Zahl der Tiere	Vagina doppelt	Uterus doppelt	Uterus einfach	Bemerkungen
1	1	+++	+++	+++	
4	2	Oestrus (+) Met —	+ (+)	++ —	+++ Parametrien
6	3	—	+ bis ++	(+)	++ Parametrien
7	2	—	(+)	—	
9	3	—	(+)	—	++ Parametrien
12	2	—	(+)	—	++ Parametrien
16	1	—	—	—	— Parametrien
28	11	—	—	—	—

Versuch 2. 25 kastrierte Weibchen (s. Tabelle 2). Einen Tag nach der Kastration sind zwar an allen drei untersuchten Stellen noch reichlich RZ vorhanden, nach 4 Tagen haben sie aber schon sehr deutlich abgenommen, ja in der Vagina sind überhaupt keine mehr nachweisbar. Bei dieser verhältnismäßig schnellen Abnahme kann es nicht gleichgültig sein, in welcher Cyclusphase die Kastration erfolgte, stellt doch die Zahl der noch nachweisbaren RZ sozusagen die Differenz zwischen den zur Zeit der Kastration vorhandenen und den nach dem Eingriff geschwundenen dar. War die Kastration zu einem Zeitpunkt erfolgt, in dem reichlich RZ vorhanden sind, wie z. B. im Oestrus, so können offenbar noch Tage nachher RZ im Uterus nachweisbar sein; traf die Kastration dagegen ein Tier mit wenigen RZ entsprechend dem Metoestrus, so sind offenbar diese wenigen RZ nach 4 Tagen schon fast völlig verschwunden. Einzelne RZ können sich noch bis zum 12. Tag nach der Kastration in der Muskulatur des unteren Uterusabschnittes halten, nach 16 Tagen ist aber der Genitaltrakt praktisch frei von RZ (s. Abb. 3).

Ebenso wie Vagina und Uterus verhält sich auch das Bindegewebe in den Parametrien und das retroperitoneale braune Fettgewebe.

Versuch 3. Progesteron (31 Tiere). Nichtkastrierten Weibchen wurde über einen bestimmten Zeitraum einmal täglich Progesteron (in Kristallen oder in Sesamöl gelöst) injiziert. Jeweils einen Tag nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet. Es erhielten:

5 Tiere	5 × 2 mg	7 Tiere	15 × 20 mg
2 „	3 × 20 mg	2 „	20 × 20 mg
12 „	10 × 20 mg	2 „	42 × 20 mg

Schon bei den 5 Tieren, die 5mal 2 mg Progesteron erhalten hatten, waren keine RZ mehr in den Uteruswandschichten zu finden, wohl aber noch reichlich im parametranen Bindegewebe. Bei allen übrigen Tieren waren überhaupt keine RZ im Genitaltrakt nachweisbar.

Versuch 4. Follikelhormon (31 Tiere, davon 9 infantile) (Tabelle 3). Da uns Vorversuche davon überzeugt hatten, daß bei Follikelhormongaben die RZ nicht wie nach Progesteron aus der Uterusmuskulatur verschwinden, sondern im Gegenteil eher vermehrt sind, mußten die Versuche über die Wirkung von Follikelhormon an Tieren durchgeführt werden, deren Genitalorgane sicher frei von RZ waren. Es kamen also entsprechend den Ergebnissen des Versuches 2 nur Tiere in Betracht, die mindestens 3 Wochen vorher kastriert worden waren. Außer an

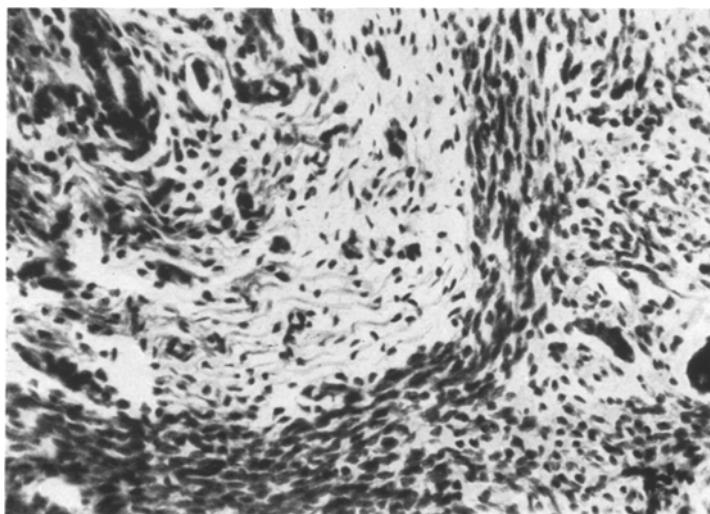


Abb. 3. Uterus frei von Lochkernen. Kastrierte Ratte (Tier 901).

kastrierten Tieren in geschlechtsreifem Alter wurden Versuche auch an infantilen Tieren angestellt, deren Vagina auch zur Zeit der Tötung noch geschlossen war, um mit Sicherheit eine ascendierende Infektion als Ursache der reichlichen RZ ausschließen zu können. Injiziert wurde Ovocyclin subcutan in Kristallen.

Tabelle 3.

Tage der Follikelhormonwirkung	Dosis mg	Zahl der Tiere	Vagina doppelt	Uterus doppelt	Uterus einfach
1	1	inf. 2	+	+	(+)
1	1,5	1	+	+	(+)
1	10	1	+++	++ bis +++	(+)
2	1	inf. 3	++ bis +++	++	(+)
2	10	1	+++	++	+
3	1	inf. 4	++ bis +++	++ bis +++	+ bis ++
3	10	2	+++	+++	+ bis ++
4	10	1	+++	+++	++
7	1,5	1	+++	+++	++

Vom 8. Tag nach Einsetzen der Follikelhormonwirkung zeigen alle Tiere gleichmäßig reichliche RZ in allen untersuchten Abschnitten (siehe Abb. 2 und 4), gleichgültig ob sie mit 1,5 mg oder 10—20 mg Follikelhormon injiziert wurden. Wir haben daher darauf verzichtet, diesen dementsprechend ganz eintönigen Teil der Tabelle, der die Zeit vom 8.—26. Tag nach Beginn der Follikelhormonbehandlung umfaßt, wiederzugeben und uns vielmehr auf den Teil beschränkt, der die erste Woche nach der Follikelhormoninjektion betrifft, weil er doch einige Besonder-

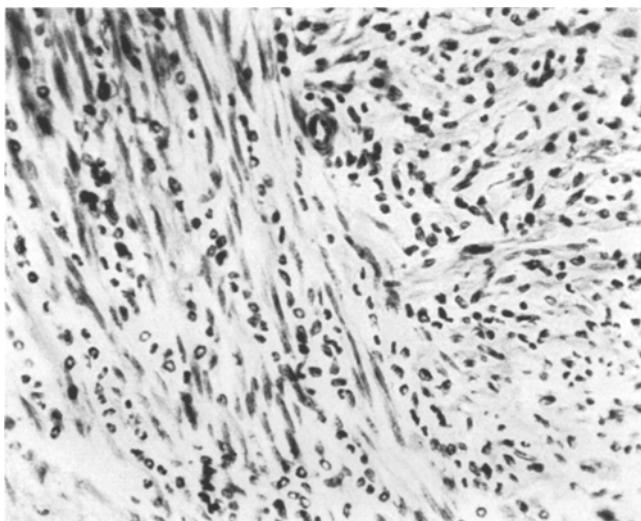


Abb. 4. Reichliche Lochkerne im Zwischengewebe der Uteruswand. Kastrierte Ratte 48 Std nach Follikelhormongabe (Tier 906).

heiten erkennen läßt. Zunächst ist ersichtlich, daß 10 mg Follikelhormon schon nach einem Tag eine reichliche Durchsetzung mancher Teile des Genitaltraktes mit RZ hervorrufen können, während 1,0 und 1,5 mg denselben Effekt erst nach 2—3 Tagen haben. Die Wirkung läßt also eine gewisse Abhängigkeit von der Dosis erkennen. Dabei können die RZ schon zu einem Zeitpunkt reichlich auftreten, zu dem das Vaginaepithel noch nicht auf das Follikelhormon reagiert hat und noch keine Schollenbildung zeigt. Weiterhin ist bemerkenswert, daß die RZ zunächst und in großer Zahl in der Vagina „doppelt“ und im unteren Uterusabschnitt auftreten, während die freien Uterushörner gewissermaßen nachhinken. Die RZ lassen sich zunächst nur in den Muskelschichten nachweisen, später dann auch im Stroma des Endometriums.

Die infantilen Tiere verhalten sich wie die kastrierten.

Schon die kleinste verwendete Follikelhormondosis (1,0 mg) ist für die Ratte eine unphysiologisch hohe, und es ist denn auch bei

allen Tieren sehr bald zu der typischen Hydrometra (LONG und EVANS) gekommen.

Besprechung der Ergebnisse.

Alle vier Versuchsreihen zeigen, daß eine deutliche Beziehung zwischen der Anwesenheit und Menge der RZ in den inneren Genitalien und deren funktionellem Zustand besteht. Am deutlichsten kommt dies dort zum Ausdruck, wo unphysiologische Reize angewendet wurden. Bei der Kastration und hohen Progesterongaben enthalten die Organe keine RZ, bzw. die RZ sind verschwunden; bei hohen Follikelhormongaben treten sie innerhalb kurzer Zeit in Massen auf. Wir sind uns dabei wohl bewußt, daß wir hier sozusagen nur den Anfang und das Ende einer Kette von Ursachen und Wirkungen vor uns haben und daß die Wege, auf denen die Sexualhormone mit dem Auftreten und Verschwinden der RZ in der Wand von Uterus und Vagina zusammenhängen, noch vollkommen unklar sind.

Dieser Zusammenhang wird zwar besonders anschaulich bei Anwendung unphysiologischer Reize. Wir konnten aber doch auch zeigen, daß schon die physiologischen Schwankungen, wie sie sich im Oestrus ausdrücken, auf die Menge der RZ in den Genitalorganen einen Einfluß ausüben. Es wäre daher sehr verlockend nachzuprüfen, welches der Schwellenwert der einzelnen Hormone für diese Wirkung ist. Man müßte z. B. feststellen, bis zu welcher Dosis man mit dem Follikelhormon bei kastrierten Ratten hinuntergehen kann, bis die Wirkung, das heißt das Erscheinen von RZ in der Uteruswand nicht mehr oder eben noch nachweisbar ist.

Die Möglichkeit, bei einem Tier das Auftreten und Verschwinden der RZ, wenn auch nur in einem Organ, nach Belieben zu steuern, kann wertvoll für die nähere Erforschung dieser merkwürdigen Zellart sein. An unseren Schnittpräparaten glauben wir jedenfalls die Ansichten durchaus bestätigen zu können, zu denen v. MÖLLENDORF auf Grund seiner Häutchenpräparate gelangt ist: Die RZ entwickeln sich aus dem ortsständigen Fibrocytennetz, aus dem sie sich ablösen, um im Gewebe selbst oder im Uteruscavum zu zerfallen. Wir haben nicht den mindesten Anhaltspunkt dafür gefunden, daß diese Zellen etwa auf dem Blutweg eingeschwemmt werden oder bloß an einer bestimmten Stelle entstehen und sich von dort aus nach überall hin ausbreiten. Bei der Ratte können also sicher aus dem Fibrocytennetz des Bindegewebes rein örtlich Zellen hervorgehen, die in einem gewissen Stadium ihrer Entwicklung von den im Knochenmark entstandenen Leukocyten nicht zu unterscheiden sind. Ob dieser Prozeß der örtlichen Leukocytentstehung auch bei Entzündung stattfindet, können wir natürlich auf Grund unserer Versuche nicht entscheiden. Damit erübrigts sich auch

eine Stellungnahme zu den diesbezüglichen Kontroversen in alter und neuer Zeit (**MAXIMOW, BUSSE-GRAWITZ**).

Schließlich möchten wir noch auf die besonders reichliche Anwesenheit von RZ in den bindegewebigen Scheidewänden des retroperitonealen sog. braunen Fettgewebes aufmerksam machen, ohne dafür eine nähere Erklärung beibringen zu können, eine Stelle, an der man die RZ sehr leicht studieren kann.

Zusammenfassung.

In den Muskelschichten des Uterus und der Vagina sowie im Stroma des Endometriums der Ratte kommen je nach der Cyclusphase verschiedene reichlich Zellen vor, die als Gewebsleukocyten, pseudo-eosinophile Leukocyten oder ringkernige Zellen bezeichnet werden.

Nach hohen Progesterongaben, Kastration und im infantilen und graviden Uterus fehlen sie völlig; hohe Follikelhormondosen führen in wenigen Tagen zu ihrem Auftreten im Uterus von kastrierten Tieren.

Diese ringkernigen Gewebsleukocyten entstehen durch Umwandlung und Ablösung von Zellen aus dem örtlichen Fibrocytennetz, wie dies v. MÖLLENDORF beschrieben hat.

Literatur.

BUSSE-GRAWITZ, P.: Verh. dtsch. path. Ges. (33. Tagg) **1949**, 220. — Virchows Arch. **323**, 622—628 (1953). — LONG, J. A., and H. M. EVANS: The oestrus cycle in the Albino-Rat. Memories of the University of California. 1922. — MAXIMOW, A.: Beitr. path. Anat. **82**, 1—23 (1929). — MÖLLENDORF, W. v.: Z. Zellforsch. **3**, 502—601 (1926).

Dr. H. GANSLER, Pathologisches Institut der Universität Marburg a. d. Lahn.