

Feinstrukturelle Befunde beim menschlichen Gasödem

E. Kaiserling

Pathologisches Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. K. Lennert) und
Schiffahrtmedizinisches Institut der Marine (Leiter: Flottenarzt Dr. A. Wandel)

Eingegangen am 7. Februar 1973

Ultrastructural Study of Human Clostridial Gas Gangrene

Summary. This paper reports the clinical course of 3 cases of human gas gangrene and on the bacteriological and morphological findings. Two of the patients were saved by hyperbaric oxygen therapy, the third patient died. *Cl. perfringens* was found in all 3 cases, in one case in conjunction with *Cl. septicum*. Staphylococci were also present in the case with fatal outcome. Substructural examinations showed that the morphological changes in the muscle fibers and blood vessels were identical to those seen earlier in animals. There was the typical early loss of the muscle plasma membrane and the destruction of the Z-lines, which was responsible for the breakdown of the muscle fibers. Medium-sized and small veins were frequently dilated. Their endothelia and those of the capillaries were often totally destroyed. Polymorphonuclear granulocytes were present only in small numbers and frequently showed defects in their cell membranes. Phagocytes of clostridia were demonstrable neither before nor after hyperbaric therapy. In one case there were intraphagosomal spores. In the two cases saved by therapy most of the bacteria were damaged. In the one case with fatal outcome the bacterial structure had not been affected by treatment.

Taking into consideration the results of in vitro experiments by other authors and the substructural changes in the bacteria described here, it is assumed that the clostridia cease to produce exotoxins under the influence of hyperbaric oxygen and that most of them perish. In comparison, spores seem to be markedly more resistant.

Zusammenfassung. In der vorliegenden Arbeit wird über feinstrukturelle Befunde bei drei Fällen menschlicher Gasödeminfektion berichtet. Zwei Patienten konnten durch den Einsatz der hyperbaren Sauerstofftherapie erfolgreich behandelt werden, ein Patient verstarb. In allen Fällen wurde *Cl. perfringens* nachgewiesen, einmal lag eine Mischinfektion mit *Cl. septicum* vor. In dem letal verlaufenen Fall wurden neben *Cl. perfringens* Staphylococci nachgewiesen.

Substrukturell ließ sich zeigen, daß die tierexperimentell nachgewiesenen Veränderungen an den Muskelfasern und den Gefäßen mit denen beim Menschen identisch sind. Entsprechend fand sich der kennzeichnend frühzeitige Verlust der Sarkoplasmamembran und die Zerstörung des Z-Streifens, die für den Zerfall der Muskelfasern verantwortlich ist. Die mittelgroßen und kleinen Venen waren oft erweitert und zeigten, wie auch die Capillaren, vielfach einen vollständigen Zerfall der Endothelien. Polymorphkernige Granulocyten kamen in einer nur geringen Zahl vor und zeigten nicht selten Defekte der Cytomembran. Eine Phagocytose von Clostridien war weder vor und nach der hyperbaren O₂-Therapie nachzuweisen. In einem Fall fanden sich einzelne Sporen in den Phagosomen polymorphkerniger Granulocyten.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse von in vitro-Versuchen anderer Autoren und den geschilderten feinstrukturellen Veränderungen an den Bakterien ist anzunehmen, daß die Clostridien unter der Wirkung des hyperbaren Sauerstoffs die Bildung von Ectotoxinen einstellen, zu einem Teil Sporen bilden, in der Mehrzahl aber zugrunde gehen. Im Fall der letal verlaufenden Infektion boten die Bakterien vor und nach Therapie das gleiche morphologische Bild.

Durch die hyperbare Sauerstoffbehandlung ist es möglich, Gasödeminfektionen des Menschen in einigen Fällen erfolgreich zu behandeln (Brummelkamp *et al.*, 1963; Brummelkamp, 1964, 1965; Boerema und Grönenveld, 1970; Hitchcock *et al.*, 1970; de Haven, 1971; Bristow *et al.*, 1971; Seemann, 1971). Die zunächst theoretische Annahme, daß die anaeroben Gasbrandkeime unter der Wirkung von O₂ zugrunde gehen und ihre Toxinproduktion einstellen, ist inzwischen durch in vitro-Versuche bestätigt worden (Übersicht bei Gottlieb, 1971). Dabei hat sich gezeigt, daß die Ergebnisse tierexperimenteller Arbeiten wegen der Toxicität des Sauerstoffes ungeeignet sind, die Fragen nach der Wirksamkeit und dem Angriffspunkt des hyperbaren Sauerstoffs zu klären (Rumann, 1970).

Unseres Wissens ist die Frage, ob die morphologischen Veränderungen beim menschlichen Gasödem Hinweise auf Ursache und Ausmaß der therapeutischen Wirksamkeit des Sauerstoffs zulassen, bislang noch nicht untersucht worden. Mit der vorliegenden Arbeit soll deshalb zu folgenden Fragen Stellung genommen werden:

1. Welche licht- und elektronenmikroskopischen Veränderungen lassen sich beim menschlichen Gasbrand im infizierten Gewebe nachweisen?
2. Lassen sich aufgrund substruktureller Veränderungen an den Clostridien Rückschlüsse auf die der hyperbaren O₂-Therapie zugrundeliegenden Wirkungsmechanismen ziehen?
3. Welche Bedeutung kommt den polymorphkernigen Granulocyten bei der Abwehr der Gasödeminfektion zu?

Kasuistik¹

Fall I. Das 6jährige Mädchen hatte sich beim Sturz von einem Obstbaum eine offene Unterarmfraktur rechts zugezogen, die mit 3 Kuntscher-Drähten operativ versorgt wurde. Postoperativ kam es zu einer schmerzhaften Schwellung des Unterarms und einer blauividen Verfärbung der Operationswunde. Am 3. postoperativen Tag wurde das Kind unter der Diagnose Gasödeminfektion in die Chirurgische Klinik der Universität Kiel verlegt. Bei der Wundrevision bot sich folgendes Bild: Breit klaffende, bläulich-cyanotisch verfärbte, flüssigkeitsreiche Wunde am unteren Unterarmdrittel mit freiliegenden Frakturenden. Zundrig zerfallendes Weichteilgewebe, aus dem eine übelriechende, schaumige Flüssigkeit hervortrat. Starke Schwellung und blaß-cyanotische Verfärbung des Unter- und Oberarmes. Bakteriologisch wurde aus dem exzidierten Gewebe Cl. perfringens angezüchtet.

Das Kind wurde insgesamt 7mal im Abstand von anfangs 8, dann 12 Std jeweils 90 min mit hyperbarem Sauerstoff (2,8 Bar) behandelt. Zusätzlich erhielt es Penicillin, später wegen einer Allergie Refobacin. Bereits am ersten Behandlungstag besserte sich das zuvor hochtoxische Allgemeinbild, Schmerzen und Schwellung des Armes gingen zurück. Die gesamte Hand, die keine Sensibilität oder Beweglichkeit mehr zeigte, verfärbte sich in den folgenden Tagen zunehmend blauschwarz. Am 5. Behandlungstag wurde daraufhin der Arm in Höhe des unteren Oberarmdrittels amputiert. Der weitere Verlauf war komplikationslos.

Fall II. Bei dem 53jährigen Patienten entwickelte sich infolge einer ausgedehnten Kreisägenverletzung der rechten Hand, die eine Amputation des Daumens und Zeigefingers notwendig machte, am 3. Tag nach dem Unfallgeschehen eine Gasödeminfektion im Bereich des Wundgebietes. Der Patient wurde zur Behandlung mit hyperbarem Sauerstoff in die Chirurgische Klinik der Universität Kiel verlegt. Bei der Aufnahme war er zeitlich und örtlich desorientiert. Das Gesichtskolorit war fahlgrau, die Zunge borkig belegt, die Kreislaufverhältnisse waren

¹ Für die Überlassung der klinischen Daten danken wir Herrn Prof. Dr. B. Löhr (Direktor der Chirurgischen Univ.-Klinik Kiel). Die bakteriologischen Untersuchungen wurden zum Teil an dem Forschungslaboratorium Prof. Dr. Klose (Kiel) und an der Veterinärmedizinischen Untersuchungsstelle Kronshagen (OS-Vet. Dr. Hobrecht) vorgenommen. Herrn Prof. Dr. C. Krauspe (Hamburg) danken wir sehr herzlich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

stabil. Die rechte Hand und der Unterarm zeigten eine erhebliche Schwellung. Der Unterarm war sehr schmerhaft, im Bereich der Hand war keine Sensibilität nachweisbar. Bei Entfernung der primären Wundnaht traten reichlich Gasblasen und übelriechendes, fleischwasserfarbenes Sekret hervor. Bakteriologisch wurden *Cl. perfringens* und *Cl. septicum* nachgewiesen. Im Tierversuch erwiesen sich die Keime als pathogen.

Der Patient wurde zunächst in 8-, dann 12ständigem Abstand insgesamt 9mal jeweils 90 min mit hyperbarem Sauerstoff bei 3 Bar behandelt. Zusätzlich erhielt der Patient Penicillin. Im Verlaufe der Behandlung bildete sich die Schwellung von Hand und Unterarm zurück. Das anfänglich teils livide, teils schmutzig-braunrote, flüssigkeitsreiche Wundgebiet wurde zunehmend trocken und verfärbte sich blauschwarz. Die Mumifizierung dehnte sich in der Folgezeit auf die gesamte radiale Mittelhand bis in die Höhe des Grundgelenkes aus. 14 Tage nach Behandlungsbeginn wurde die Hand amputiert. Im Operationspräparat konnten Clostridien bakteriologisch nicht mehr nachgewiesen werden.

Fall III. Bei dem 66jährigen Patienten kam es nach einer Oberschenkelamputation, die wegen einer diabetischen Gangrän des Fußes vorgenommen worden war, zu einer Gasödeminfektion im Bereich des Amputationsstumpfes. Bei der Aufnahme des Patienten in der Chirurgischen Klinik der Universität Kiel bot er ein hochtoxisches Allgemeinbild. Es bestand eine Kussmaulsche Atmung, der systolische Blutdruck lag bei 65 mm Hg. Der Oberschenkelstumpf war auf das Doppelte seines Umfangs angeschwollen, die Haut bis in die Leistenbeuge livide verfärbt. Das Scrotum war auf DoppeltaufgröÙe angeschwollen. Im stumpfnahen Bereich war bei der Palpation ein deutliches Knistern nachweisbar, aus dem Wundgebiet floß übelriechende, schaumige Flüssigkeit ab. Der Patient wurde, nachdem der Kreislauf stabilisiert war, 2mal jeweils 90 min mit hyperbarem Sauerstoff (3 Bar) behandelt. Als Antibioticum erhielt er Penicillin. Das Zustandsbild verschlechterte sich jedoch zunehmend, so daß eine weitere Behandlung in der Überdruckkammer nicht mehr vorgenommen werden konnte. Am 3. postoperativen Tag verstarb der Patient im Herz-Kreislaufversagen.

Im biotisch und postmortal entnommenen Material wurden *Cl. perfringens* und *Staphylococcus* nachgewiesen. Im Tierversuch erwiesen sich die anaeroben Keime als pathogen.

Methoden

Zur licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung entnahmen wir Gewebsproben vor Beginn der hyperbaren Sauerstofftherapie, unmittelbar im Anschluß an eine Überdruckbehandlung sowie den Amputationspräparaten im Fall I und II. Bei Fall III wurde eine Gewebsprobe vor Behandlungsbeginn, eine weitere unmittelbar nach Ableben des Patienten entnommen.

Das Gewebe wurde unmittelbar nach Entnahme zu einem Teil in 10%igem Formalin eingelegt, zum anderen in Form kleiner Gewebsstückchen zunächst 2 Std in 5%igem Glutaraldehyd (0,1 M Cacodylatpuffer pH 7,3) bei 4° C anschließend in 1%iger OSO_4 -Lösung (Rhodinpuffer) fixiert. Anschließend stufenweise Entwässerung in Aceton und Einbettung in Araldit. Die Semidünnschnitte wurden mit Azur-II-Methylenblau gefärbt, die Dünnschnitte mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung diente ein Siemens Elsmiskop I. Die formolfixierten Gewebsproben wurden in Paraffin eingebettet, die Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin und nach Gram gefärbt.

Befunde

Gewebliche Veränderungen

In den vor Behandlungsbeginn und im Laufe der hyperbaren Therapie entnommenen Gewebsproben bot sich bei den 3 untersuchten Fällen ein nahezu gleichartiges Bild. Neben reichlich Zelldetritus, massenhaft gram-positiven Bakterien fanden sich Anteile quergestreifter Muskelfasern, kollagene Faserbündel, einige polymorphkernige Granulocyten sowie meist hochgradig geschädigte Blutgefäß. Die Muskelfasern zeigten lichtmikroskopisch eine Vacuolisierung des Sarkoplasmas und einen grobscholligen Zerfall der Muskelfasern, wobei die Querstreifung viel-

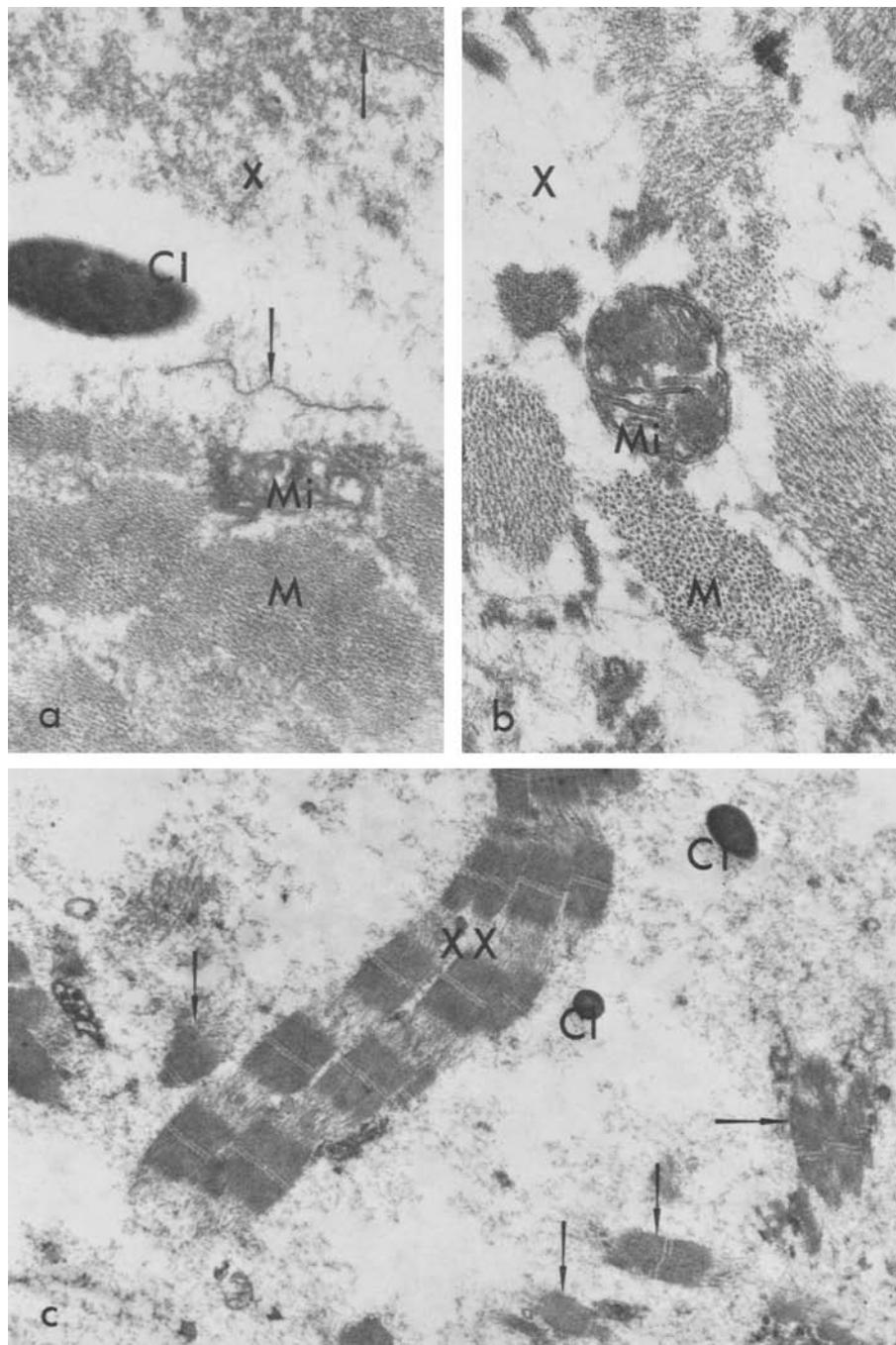


Abb. 1. a Anteile degenerativ veränderter Muskelfasern (M). Fall I. Von der Sarkoplasmamembran sind nur Fragmente erhalten (Pfeile). Im interstitiellen Raum (X) ein transparentes, feinflockiges Material sowie ein Bakterium ($Cl.$), von einem elektronenoptisch leer erscheinenden

fach noch deutlich zu erkennen war. Submikroskopisch wurde eine Sarkoplasma-membran meist vermißt (Abb. 1 c, 2 und 3), vereinzelt war sie noch bruchstückhaft erhalten (Abb. 1a). Die Basalmembranen konnten nur gelegentlich nachgewiesen werden (Abb. 3). Der interfibrilläre Raum war häufig erweitert und erschien elektronenoptisch transparent (Abb. 1a und b). Das sarkoplasmatische Reticulum war entweder vesiculär erweitert, oder es bestand aus einzelnen Membranfragmenten. Die meist geschwollenen Mitochondrien wiesen gelegentlich elektronendichte granuläre Abscheidungen an den Cristae oder an den Außenmembranen auf (Abb. 1a und b). Das kontraktile System zeigte folgende Veränderungen: Während im Bereich der I-Banden eine Z-Linie nahezu regelmäßig fehlte, waren die A-Banden, gekennzeichnet durch die mittelständige H-Zone, im allgemeinen unverändert. Sie verloren auch dann nicht ihre Grundstruktur, wenn sie als solitäre Bruchstücke im interstitiellen Raum oder in unmittelbarer Nachbarschaft von Bakterien lagen (Abb. 1c). Ein vollständiger Zerfall der Muskelfasern zu einem granulären amorphen Material war gelegentlich zu beobachten (Abb. 2).

Der interstitielle Raum war hochgradig erweitert und mit einem elektronenoptisch transparenten Ödem, bisweilen auch mit Fibrin angefüllt (Abb. 3). Polymorphekernige Granulocyten kamen in einer nur geringen Zahl vor; im Fall 3 waren sie nur ganz vereinzelt zu beobachten. Ihr Cytoplasma erwies sich als granulaarm, nicht selten zeigte sich ein partieller oder vollständiger Verlust der äußeren Zellmembran (Abb. 4a). Die Capillaren waren im Gegensatz zu den Venen und Venolen meist englumig. Die Endothelien der Capillaren und der venösen Gefäße zeigten eine Schwellung oder einen vacuoligen Zerfall (Abb. 3). Zwischen den Endothelien fand man nicht selten breite Dehiszenzen. Die Basalmembran zeigte im allgemeinen keine Veränderungen. Teils waren die Gefäßlumina durch Fibrinthromben verschlossen, teils mit einem Konvolut nicht selten hämolysierter Erythrocyten angefüllt. Im Fall II fanden sich auch die mittelgroßen und großen Arterien thrombotisch verlegt, im Amputationspräparat zeigte sich ein vollständiger thrombotischer Verschluß der A. radialis und A. ulnaris. Die Kollagenfasern ließen keine wesentlichen Veränderungen erkennen. Auch unmittelbar in der Umgebung der Bakterien war die Periodik der Fasern erhalten (Abb. 2). Zwischen den Kollagenfasern sah man nicht selten breite, transparente Spalträume mit einem bisweilen feingranulären oder fädigen Material.

Bakteriologische Befunde und Substruktur der Bakterien

In allen Fällen lag eine Infektion mit Cl. perfringens vor. Bei Fall II wurden zusätzlich Cl. septicum, im Falle III Staphylococci nachgewiesen. Die anaeroben Keime erwiesen sich im Tierversuch als pathogen.

Hof umgeben. *Mi* Weitgehend zerstörtes Mitochondrium. $28000 \times$ b Randbezirk einer Muskelfaser mit einem hochgradigen Sarkoplasmaödem (X). Fall I. *M* Myofibrillen. Mitochondrium (*Mi*) mit granulären Verdichtungen an den inneren und äußeren Membranen. $60000 \times$. c Muskelfragmente in einer vor Behandlungsbeginn entnommenen Biopsie (Fall I). Die Muskel-fibrillen liegen zum Teil noch in einem axial ausgerichteten Verband (XX), zum Teil sind sie in Bruchstücke zerfallen und bestehen aus solitären A-Banden (Pfeile). In dem von einem fein-flockigen, teils amorphen Material durchsetzten Ödem sind zwei Bakterien angeschnitten (Cl.).

$11\,000 \times$

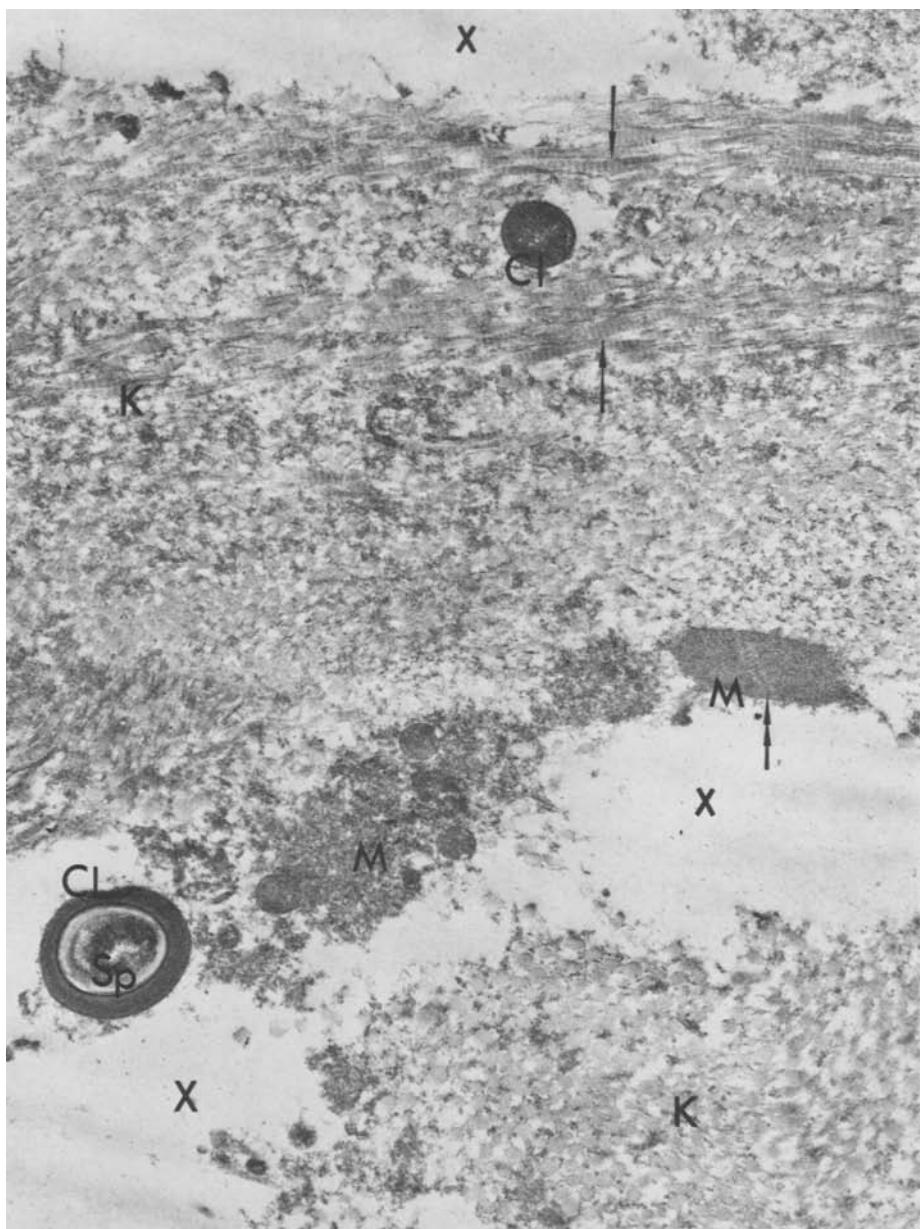


Abb. 2. Kollagenfaserreiches Gewebe mit Anteilen von Muskulatur. Fall II, Gewebsentnahme vor Behandlungsbeginn. Zwischen den Kollagenfasern (*K*) mit einer deutlich erkennbaren Periodik (Pfeile) liegen breite Ödemseen (*X*). Reste zerstörter Muskelfasern (*M*). Der Doppelpfeil weist auf eine A-Bande mit einer noch gut strukturierten H-Zone. Eines der Bakterien (*Cl.*) enthält eine Spore (*Sp*). 16000 ×

Abb. 3. Degenerative Veränderungen einer Capillare. Fall I. Die Endothelien (*E*) sind weitgehend zerstört. Im Lumen neben Zellschutt reichlich Fibrin. Die Basalmembran ist erhalten



(Doppelpfeile), aber stellenweise diskontinuierlich (*X*) und verbreitert. *Fx* Extravasale Fibrinpräcipitate. Die Sarkoplasmamembran der Muskelfasern (*M*) ist nur noch andeutungsweise zu erkennen (Pfeile). *G* Cytoplasmaausläufer von Granulocyten. *I* interstitielles Ödem. $11\,000\times$

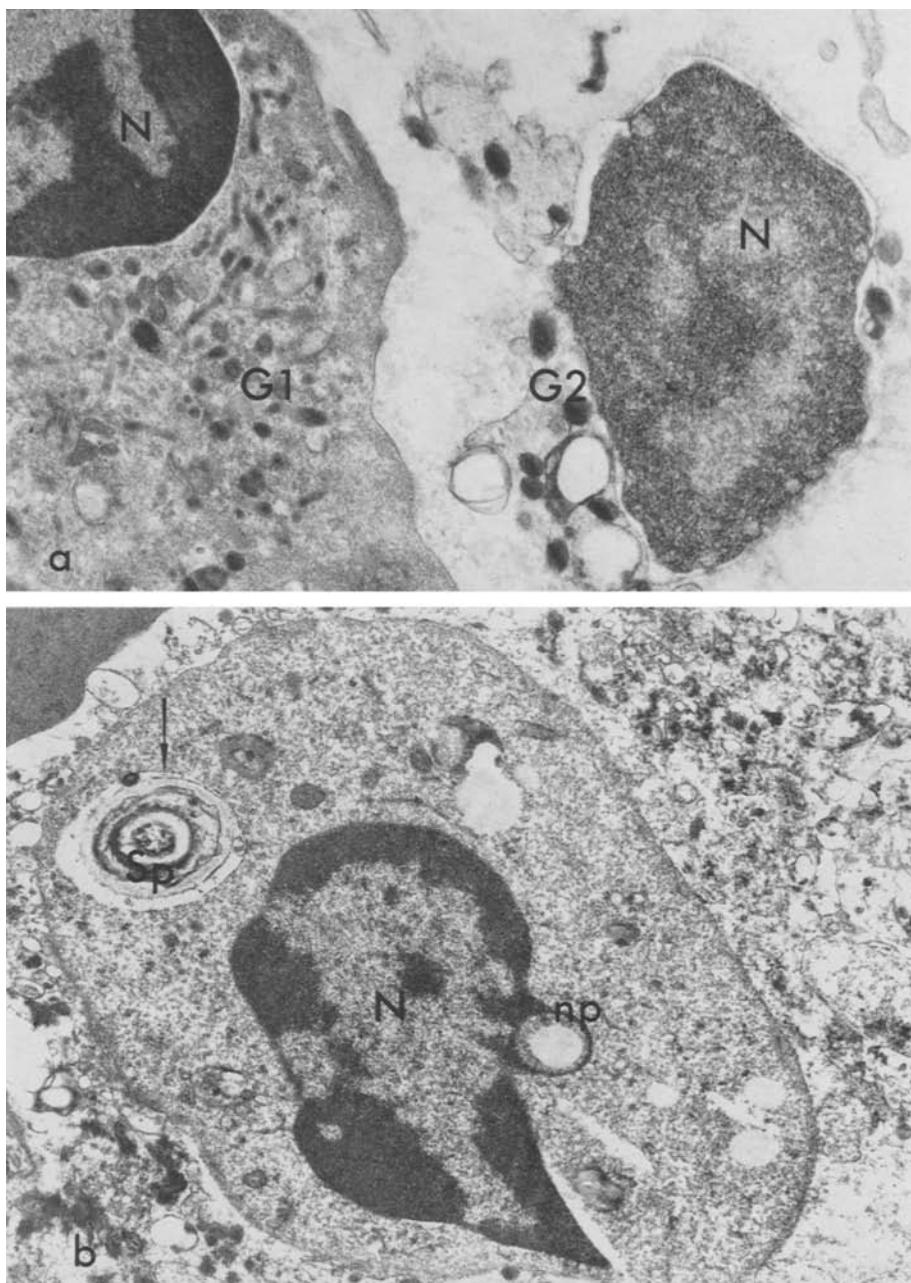


Abb. 4. a Zwei polymorphkernige Granulocyten (Fall I); der eine (G_1) mit einem granularen Cytoplasma, der andere (G_2) mit einem weitgehend zerfallenen Cytoplasma. N Zellkerne. $9000 \times$. b Degranulierter, polymorphkerniger Granulocyt mit einer intraphagosomalen Spore (Sp). Fall I, nach abgeschlossener Therapie. Pfeil = Phagosomenmembran, np Kerntasche, N Zellkern. $29000 \times$

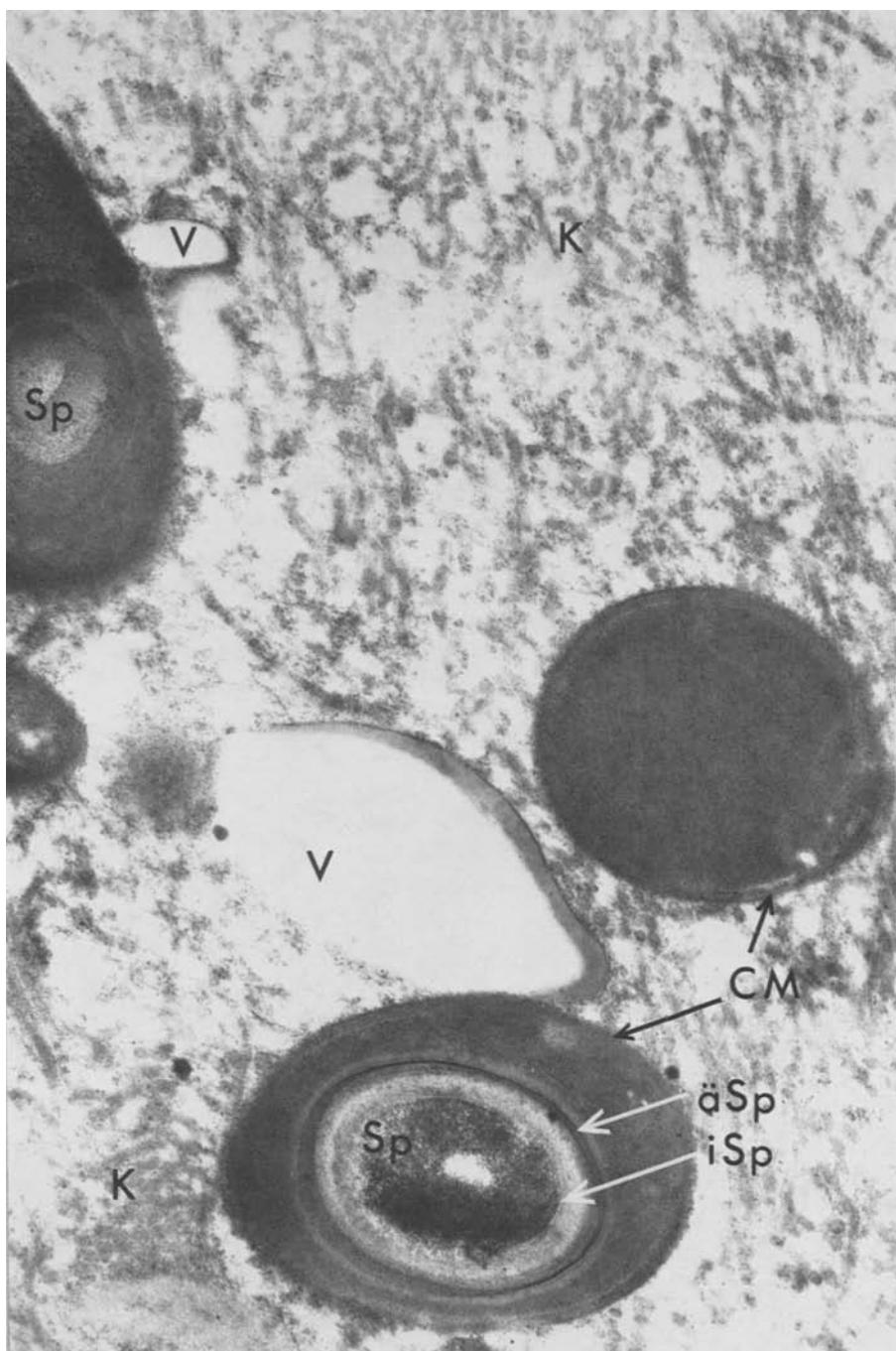


Abb. 5. Clostridien mit einem elektronendichten Cytoplasma und angeschnittenen Innensporen (*Sp*). Fall II. *CM* Cytomembran, *äSp* äußere Sporenhülle, *iSp* innere Sporenhülle. Die Periodik der kollagenen Fasern (*K*) ist erhalten. Die elektronenoptisch transparenten Räume (*V*) entsprechen möglicherweise Gasblasen. $43000 \times$

In allen Fällen waren licht- und elektronenmikroskopisch zahlreiche Bakterien nachzuweisen. Sie lagen teils einzeln, teils in Gruppen zwischen den Muskelfragmenten im interstitiellen Raum, teils auch zwischen den Kollagenfasern (Abb. 2 und 5). Die Bakterien zeigten feinstrukturell den typischen Membranaufbau gram-positiver Bakterien (Abb. 5). Außen waren die Bakterien von einer wechselnd breiten, feinfädig strukturierten Schleimkapsel oder von einem elektronenoptisch transparenten Hof umgeben. Das Cytoplasma war elektronenoptisch dicht und enthielt bisweilen transparente Speichernvacuolen. Nach Zahl und Anteil sporenbildender Bakterien ergaben sich bei den untersuchten Fällen deutliche Unterschiede: Im Fall I und II war in dem vor Behandlungsbeginn entnommenen Gewebe eine Sporenbildung bei etwa $\frac{1}{3}$ der Bakterien nachzuweisen. Bei dem letal verlaufenen Fall fiel neben der ungewöhnlich großen Zahl der vorwiegend fischzugartig formierten Clostridien das vollständige Fehlen einer Sporenbildung auf. Freie Sporen konnten in keinem Fall nachgewiesen werden. Die Zahl der Endosporen in dem nach Abschluß und im Verlauf der Therapie entnommenen Gewebe war deutlich größer als in den ersten Gewebsproben. Im Amputationspräparat im Falle II wurden etwa 50% der Bakterien mit Endosporen angetroffen. Intakte Bakterien fanden sich in den Amputationspräparaten (Fall I und II) nur ganz vereinzelt. Die Bakterien zeigten meist eine geringe Elektronendichte und fleckförmige Transparenz des Cytoplasmas (Abb. 6). Bisweilen waren nur Fragmente von Bakterienmembranen zu erkennen. Bei dem verstorbenen Patienten erschien die Substruktur der Bakterien in dem vor Behandlungsbeginn und dem postmortal entnommenen Gewebe gleichartig.

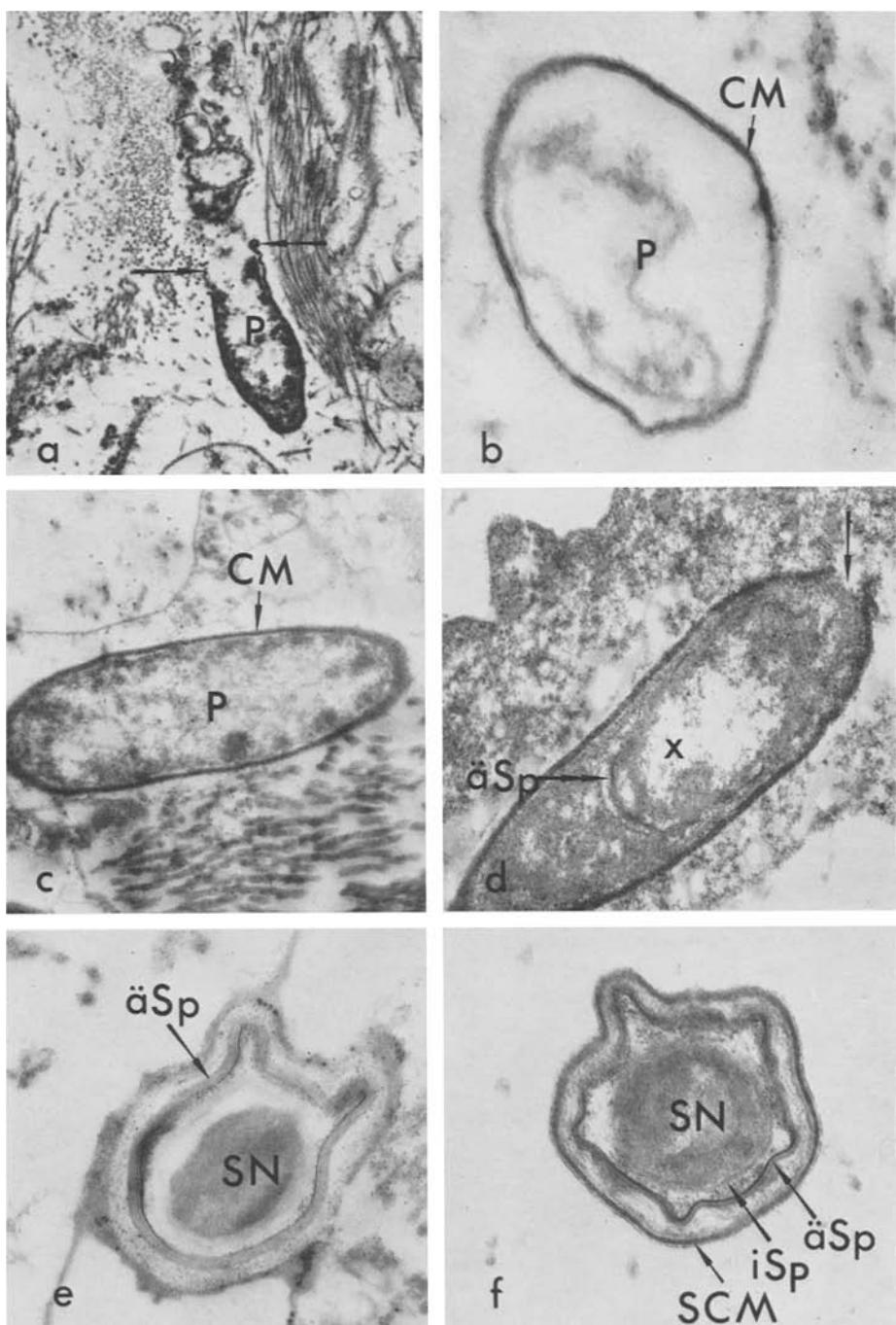
Eine Phagocytose von Bakterien war in keinem der Fälle zu beobachten. In Fall I waren vereinzelt intraphagosmale Sporen in polymorphkernigen Granulozyten nachzuweisen (Abb. 4).

Diskussion

Die geweblichen Veränderungen in den dargelegten Fällen entsprechen im wesentlichen dem von verschiedenen Autoren beschriebenen Bild einer „anaeroben Myonekrose“ (Bieling und Nordmann, 1941; Krauspe, 1944; Zeissler, *et al.*, 1958, 1960; Bonciu *et al.*, 1966; Linzenmeier, 1966). Im Vordergrund der morphologischen Befunde stehen der grobschollige Zerfall der Muskelfasern, das hochgradige interstitielle Ödem, die Dilatation der venösen Gefäße und die große Zahl stäbchenförmiger gram-positiver Bakterien.

Durch tierexperimentelle Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß der Zerfall der Muskelfasern letztlich auf dem Verlust der Sarkoplasmamembran beruht (Strunk *et al.*, 1967; Kaiserling). Die Zerstörung der Zellmembran ist, wie die Untersuchungen von Strunk *et al.* gezeigt haben, durch die Ectotoxine der Clostridien, im wesentlichen durch das alpha-Toxin (Lecithinase C), bedingt. Der lichtmikroskopisch nicht faßbare Verlust der Sarkoplasmamembran geht dem Zerfall

Abb. 6. Bakteriendegenerate und Sporen. Fall II nach abgeschlossener Therapie. Die Cyto-membranen (CM) der Bakterien sind häufig aufgebrochen (Pfeile), das Plasma (P) ist hochgradig entmischt. In Abbildung d eine Vorspore mit einem elektronenoptisch transparenten Sporenhalt (x) und einem Membrandefekt der Sporenmutterzelle (Pfeil). Endosporen kommen



in dem Gewebe in großer Zahl vor (e, f). *SM* Sporenkern, *iSp* innere Sporenhülle, *äSp* äußere Sporenhülle, *SCM* Sporangiumzellmembran. a = 10500 \times , b = 53000 \times , c = 27000 \times , d = 29000 \times , e = 48000 \times , f = 35000 \times

des contractilen Systems, der auf einer Zerstörung des Z-Streifens beruht, regelmäßig voraus. Auch wenn elektronenmikroskopisch eine Z-Linie nicht mehr zu erkennen ist, bleibt die Querstreifung der Muskulatur lichtmikroskopisch noch sichtbar. Mit zunehmender Schädigung des sarkoplasmatischen Reticulums, dem Untergang der Mitochondrien und der Zellkerne, zerfallen die Muskelfasern schließlich in kurze Fragmente, die nur noch aus solitären A-Banden bestehen.

Im Prinzip läuft die Gasödeminfektion beim Menschen in gleicher Weise ab. Eine Sarkoplasmamembran wird in weiten Teilen vollständig vermißt oder besteht nur noch aus kurzen Bruchstücken. Während jedoch beim tierexperimentellen Gasödem auch nach Zerstörung der Sarkoplasmamembran zunächst erhalten bleibt, geht beim menschlichen Gasödem mit dem Verlust der Sarkoplasmamembran auch die Basalmembran zugrunde. Die geringe Breite der Basalmembran in der menschlichen Muskulatur im Vergleich zum Meerschweinchen oder auch Unterschiede der Toxinkonzentration oder des Toxinspektrums könnten ihre gesteigerte Labilität erklären.

Die übrigen Veränderungen — das interfibrilläre Ödem, die Fragmentierung des sarkoplasmatischen Reticulums und der Untergang der Mitochondrien — gleichen den tierexperimentellen Befunden. Granuläre Verdichtungen an den äußeren und inneren Mitochondrienmembranen, die erstmals von Grossman *et al.* (1967) beschrieben wurden, sind beim Menschen meist nur andeutungsweise zu erkennen. Wie Untersuchungen von Strunk *et al.*, (1967) gezeigt haben, dürften die degenerativen Veränderungen der Zellorganellen weniger durch die Gasbrandtoxine als vielmehr durch zelleigene Enzyme bedingt sein. Die Untersuchungen von Busch *et al.* (1972) legen die Vermutung nahe, daß die Zerstörung des Z-Streifens auch auf die Wirkung eines spezifischen Sarkoplasmafaktors zurückzuführen ist.

Die Gefäße zeigen beim menschlichen und tierexperimentellen Gasbrand ein nahezu gleichartiges Bild. So findet sich eine Dilatation der kleinen Venen, während die Arterien meist enggestellt sind. Erweiterte Gefäße sind fast regelmäßig mit reichlich Erythrocyten, teils auch mit Fibrinthromben gefüllt. Die Endothelien zeigen oft hochgradig degenerative Veränderungen. Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, daß diese im wesentlichen auf die Wirkung des alpha-Toxins zurückzuführen sind (Elder und Miles, 1957; Cotran, 1967; Wells, 1972). Veränderungen an der terminalen Strombahn sind die Ursache für das bei der Gasbrandinfektion nahezu regelmäßig nachweisbare und oft ausgeprägte interstitielle Ödem. Die damit verbundene Hypoxie des Gewebes, verstärkt durch traumatische, arteriosklerotische oder (wie im Fall III) diabetische Gefäßveränderungen, dürfen die Ausbreitung und den Verlauf der Infektion ungünstig beeinflussen.

Wie im tierischen Gewebe fanden sich auch im menschlichen Untersuchungsmaterial keine Veränderungen an den kollagenen Fasern, die sich auf die Wirkung der Collagenase, ein *in vitro* hochwirksames Ectotoxin der Clostridien, zurückführen ließe.

Nach den Untersuchungen von Zeissler *et al.* (1958, 1960) verhalten sich die polymorphekernigen Granulocyten gegenüber den Clostridien sowohl bei der menschlichen als auch bei der experimentellen Infektion von Fall zu Fall unterschiedlich: Teils findet sich eine ausgeprägte Phagocytose, in anderen Fällen wird sie vollständig vermißt. In unseren experimentellen Untersuchungen mit *C. perfringens* haben wir in keinem Falle eine eindeutige Phagocytose von Clostridien

beobachten können. Es ist anzunehmen, daß dies im wesentlichen von der Art und Zusammensetzung der Toxine, d. h. von der Art der verwendeten Erregerstämme, abhängt. Ganley *et al.* (1955) haben gezeigt, daß die Phagocytose von Granulocyten gegenüber abgetöteten Bakterien (*Bacillus anthracis*) unter der Wirkung von ungereinigten Gasbrandtoxinen und verschiedenen Toxinfraktionen erheblich geringer wird. Außerdem läßt sich mit einer der Fraktionen eine selektive Phagocytosehemmung hervorrufen, ohne daß sich in dieser Fraktion eines der bekannten Toxine nachweisen ließ. Die vorliegenden Befunde legen nahe, daß das Ausbleiben der Phagocytose zum Teil auf einer negativ leukotaktischen Wirkung der Toxine, zum Teil auf einer cytotoxischen Wirkung beruht. Für die erste Aufnahme spricht die oft sehr geringe Zahl von Granulocyten im Infektionsgebiet; für die cytotoxische Wirkung der Toxine spricht, daß die Granulocyten oft ausgedehnte Defekte ihrer Cytomembranen aufwiesen, ohne daß Kern oder Zellorganellen zunächst wesentliche degenerative Veränderungen zeigten (Abb. 4).

Offenbar sind die polymorphkernigen Granulocyten für die Abwehr der Gasbrandinfektion ohne oder von nur untergeordneter Bedeutung. Demgegenüber kommt es nach Injektion von antitoxischem Gasbrands serum zu einer ausgesprochenen granulocytären Reaktion im Entzündungsfeld (Bieling und Nordmann, 1941) und einer starken Phagocytose der Clostridien (Ganley *et al.*, 1955; Zeissler *et al.*, 1960). Diese Befunde fanden sich experimentell auch in eigenen elektronenmikroskopischen Untersuchungen bestätigt, über die in anderem Zusammenhang berichtet werden soll.

Ungeklärt ist bislang die Frage, wie sich die polymorphkernigen Granulocyten unter der Wirkung von hyperbarem Sauerstoff bei dem Gasödem verhalten. Wie die Untersuchungen von van Unnik (1965) gezeigt haben, stellen die Clostridien unter der Einwirkung von hyperbarem Sauerstoff ihre Toxinproduktion ein. Es lag daher die Vermutung nahe, daß es im Entzündungsfeld in Analogie zu den Untersuchungen mit antitoxischem Serum zu einer granulocytären Reaktion und einer Phagocytose der Bakterien kommt. In unseren Untersuchungen ließ sich jedoch bei der Behandlung des Gasödems mit hyperbarem Sauerstoff weder eine granulocytäre Reaktion noch eine Phagocytose von Bakterien nachweisen. Die Phagocytose von Sporen (Fall I) dürfte für den Ablauf der Infektion ohne wesentliche Bedeutung sein. Sie zeigt jedoch, daß die Granulocyten grundsätzlich zur Phagocytose befähigt sind. Der hyperbare Therapie liegt offenbar ein anderer Wirkungsmechanismus zugrunde als es bei der Behandlung mit antitoxischem Serum zu beobachten ist. Zu erwägen sind dabei folgende Möglichkeiten: 1. Die Bakterien stellen unter der Wirkung von hyperbarem Sauerstoff ihre Toxinproduktion ein. — 2. Eine Vermehrung der Bakterien unterbleibt. — 3. Die Bakterien gehen zugrunde oder bilden Sporen.

Durch *in vitro*-Versuche konnte van Unnik (1965) zeigen, daß bei *Clostridium perfringens* nach 1,5stündiger Exposition bei 3 Bar die Bildung des alpha-Toxins und eine Vermehrung der Bakterien unterbleiben. Unter anaeroben Bedingungen können die Bakterien jedoch ihre Toxinproduktion erneut aufnehmen. Wenngleich sich in den untersuchten Fällen substrukturell an den Bakterien keine Veränderungen zeigten, die als Zeichen einer vermindernden Toxinproduktion interpretiert werden könnten, läßt das klinische Bild darauf schließen, daß zumindest während der Sauerstoffbehandlung die Toxinproduktion und/oder die Wirksamkeit der Toxine abnehmen. Eine baktericide Wirkung des Sauerstoffs zeigt sich *in vitro* nach den Untersuchungen von Pacheco und Costa (1941) erst nach einer dreitägigen Exposition. Die vorliegenden

Befunde zeigen jedoch, daß die Zahl der zugrunde gegangenen Bakterien auch nach der therapeutisch üblichen (kurzzeitigen und intermittierenden) Sauerstoffbehandlung im Vergleich zum Präparat vor Behandlungsbeginn erheblich zugenommen hat. Somit dürfte die Langzeitexposition hinsichtlich der baktericiden Wirkung der intermittierenden Sauerstoffbehandlung vergleichbar sein. Die Sporen scheinen demgegenüber vom hyperbaren Sauerstoff nur wenig beeinflußt zu werden. Nach Untersuchungen verschiedener Autoren (Pacheco und Costa, 1941; Demello *et al.*, 1970; Hill und Osterhout, 1970) verhalten sich die Sporen auch *in vitro* gegenüber dem Sauerstoff resistenter als die Bakterien. Daß sich gelegentlich Gasbrandkeime aus dem Gewebe auch nach einer bereits abgeheilten Gasbrandinfektion anzüchten lassen, ist wiederholt beschrieben worden (van Unnik, 1956; Brummelkamp, 1965).

Die Behandlung mit Antibiotica (Penicillin) scheint in den vorliegenden Fällen zu keinen morphologisch faßbaren Veränderungen an den Bakterien geführt zu haben. In allen Fällen war der hyperbare Therapie eine dreitägige Behandlung mit Penicillin vorangegangen, ohne daß sich eine nennenswerte Zahl an Bakteriendegeneraten in den vor Beginn der hyperbaren Therapie exstirpierten Gewebsproben fand. Zudem waren feinstrukturelle Unterschiede zwischen den Bakterien in der Primärbiopsie und in den Reinkulturen von *Clostridium perfringens* (Fall I), die wir für tierexperimentelle Untersuchungen verwandt haben, nicht festzustellen.

Der letale Verlauf im Fall III bestätigt die Beobachtung, daß Mischinfektionen mit aeroben Bakterien, insbesondere mit *Staphylococcus aureus* und *Streptococci*, eine schwere Komplikation des Gasödems darstellen können (Grumbach, 1958; Schallehn und Havemeister, 1967). Die Ursache für die Steigerung der Pathogenität der Clostridien bei Mischinfektionen ist allerdings bislang nicht geklärt. Auffallend war in dem vorliegenden Fall, daß die Clostridien keine Sporenbildung erkennen ließen, was auf ein gewebliches Milieu schließen läßt, das eine ungehemmte Vermehrung der Bakterien begünstigt.

Die einleitend aufgeworfenen Fragen lassen sich aufgrund der dargelegten Befunde folgendermaßen beantworten:

Die substrukturellen Veränderungen der Muskulatur und der Gefäße sind bei der menschlichen und tierexperimentellen Gasbrandinfektion nahezu gleich. Die Zerstörung des kontraktilen Systems und der Zellorganellen dürfte durch den Verlust der Sarkoplasmamembran eingeleitet werden. Während die Zerstörung der Zellmembran durch die Toxine der Clostridien hervorgerufen wird, sind die übrigen Veränderungen der Muskulatur wahrscheinlich unspezifische Phänomene. Die Dilatation der Venen und der Untergang der Gefäßendothelien dürfte auf die Wirkung der Gasbrandtoxine selbst zurückzuführen sein. Die morphologischen Befunde legen nahe, daß die Clostridien unter der Wirkung des hyperbaren Sauerstoffes die Produktion der Ectotoxine einstellen und zugrunde gehen. Die große Zahl der Sporen, die sich nach Abschluß der Therapie nachweisen ließ, deutet daraufhin, daß die Sporen gegenüber dem hyperbaren Sauerstoff resistenter als die Bakterien sind. Den polymorphkernigen Granulocyten kommt bei der Abwehr der Infektion auch unter dem Einfluß des hyperbaren Sauerstoffs keine wesentliche Bedeutung zu.

Literatur

- Bieling, R., Nordmann, M.: Kriegserfahrungen zur Pathologie und Therapie des Gasbrandes.
In: Veröffentlichungen aus der Konstitutions- und Wehrpathologie, Heft 47. Jena: G. Fischer 1941.
- Boerema, I., Groeneveld, P.H.A.: Gas gangrene treated with hyperbaric oxygenation. Proc. Int. Congr. on Hyperbaric Medicine, 4th. Ed. J. Wada, T. Iwa, p. 255—262. Tokyo: Igaku Shoin. Ltd. 1970.

- Bonciu, C., Bittner, J., Petrovici, M., Ardeleanu, J.: Le traitement complexe de la gangrène gazeuse. IV. Lésions histo-pathologiques dans l'infection expérimentale avec Clostridium perfringens des souris blanches et leur dynamique normale, ainsi que sous l'influence de certains complexes thérapeutiques. Arch. roum. Path. exp. Microbiol. **25**, 665—690 (1966).
- Bristow, J. H., Kassar, B., Sevel, D.: Gas gangrena panophthalmitis treated with hyperbaric oxygen. Brit. J. Ophthal. **55**, 139—142 (1971).
- Brummelkamp, W. H.: Treatment of infections with Clostridium welchii by oxygen therapy at 3 atmospheres. A report on 37 cases. In: Clinical application of hyperbaric oxygen, eds. Boerema, I., Brummelkamp, W. H. and N. G. Meijne, p. 20—30. Amsterdam-London-New York: Elsevier 1964.
- Brummelkamp, W. H.: Considerations on hyperbaric oxygen therapy at three atmospheres absolute for clostridial infections type welchii. Ann. N. Y. Acad. Sci. **117**, 688—699 (1965).
- Brummelkamp, W. H., Boerema, I., Hoogendijk, L.: Treatment of clostridial with hyperbaric oxygen drenching. Lancet **1963 I**, 235—238.
- Busch, W. A., Stromer, M. H., Goll, D. E., Suzuki, A.: Ca²⁺-specific removal of Z lines from rabbit skeletal muscle. J. Cell. Biol. **52**, 367—381 (1972).
- Cotran, R. S.: Studies on inflammation. Ultrastructure of the prolonged vascular response induced by Clostridium oedematiens toxin. Lab. Invest. **17**, 39—60 (1967).
- DeHaven, K. E., Evarts, C. M.: The continuing problem of gas gangrene: A review and report of illustrative cases. J. Trauma **11**, 983—991 (1971).
- Demello, F. J., Hashimoto, T., Hitchcock, C. R., Haglin, J. J.: The effect of hyperbaric oxygen on the germination and toxin production of Clostridium perfringens spores. Proc. Int. Congr. on Hyperbaric Medicine, 4th. Ed. J. Wada, T. Iwa, p. 276—281. Tokyo: Igaku Shoin, Ltd. 1970.
- Elder, J. M., Miles, A. A.: The action of the lethal toxins of gas-gangrene Clostridia on capillary permeability. J. Path. Bact. **74**, 133—145 (1957).
- Ganley, O. H., Merchant, D. J., Bohr, D. F.: The relationship of toxic fractions of a filtrate of Clostridium perfringens type A to the pathogenesis of clostridial myonekrosis. J. exp. Med. **101**, 605—615 (1955).
- Gottlieb, S. F.: Effect of hyperbaric oxygen on microorganisms. Ann. Rev. Microbiol. **25**, 111—152 (1971).
- Grossven, I. W., Heitkamp, D. H., Sacktor, B.: Morphologic and biochemical effects of Clostridium perfringens alpha-toxin on intact and isolated skeletal muscle mitochondria. Amer. J. Path. **50**, 77—88 (1967).
- Grumbach, A.: Die Gasbrand- oder Gasödeminfektionen. In: Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger, Bd. II, Hrsg. A. Grumbach u. W. Kikuth. Stuttgart: G. Thieme 1958.
- Hitchcock, C. R., Baker, R. C., Foss, D. L., Haglin, J. J.: Selection of patients with gas gangrene for hyperbaric oxygen therapy. Proc. Int. Congr. on Hyperbaric Medicine, 4th. Ed. J. Wada, T. Iwa, p. 269—275. Tokyo: Igaku Shoin Ltd. 1970.
- Hill, G. B., Osterhout, S.: Effects of hyperbaric oxygen on clostridial species and experimental anaerobic infections. Proc. Int. Congr. on Hyperbaric Medicine, 4th. Ed. J. Wada, T. Iwa, p. 282—287. Tokyo: Igaku Shoin, Ltd. 1970.
- Kaiserling, E.: Ultrastrukturelle Befunde bei der experimentellen Gasbrandinfektion mit Clostridium perfringens. In Vorbereitung.
- Krauspe, C.: Beitrag zur Schnelldiagnose und Morphologie der Gasödemkrankung. Verh. dtsch. Ges. Path. 83—90 (1944).
- Linzenmeier, G.: Experimentelle Infektionen durch anaerobe Sporenbildner (Clostridien) der Gasbrandgruppe. In: Eichler, E. Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. XVI/10, Infektionen II, S. 244—291. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
- Pacheco, G., Costa, G. A.: Influência do oxigênio sob pressão sobre o „Clostridium Welchii“. Rev. bras. Biol. **1**, 145—153 (1941).
- Rumann, T.: Die Wirksamkeit von hyperbarem Sauerstoff bei experimentellem Gasödem der Meerschweinchen und Mäuse. Inaug.-Diss. Med. Fak. Univ. Kiel, 1970.
- Schallehn, G., Havemeister, D.: Die Bedeutung anaerober und aerober Mischinfektionen für den Ausbruch und Verlauf des Gasödems bei Meerschweinchen. Wehrmed. **5**, 110—118 (1967).
- Seemann, K.: Hyperbare Therapie der Gasödeminfektion. Erfahrungen und Folgerungen. 108. Tag. der Vereinigung nordwestdeutscher Chirurgen. Hamburg, 1971.

- Strunk, S. W., Smith, C. W., Blumberg, J. M.: Ultrastructural studies on the lesion produced in skeletal muscle fibers by crude type A Clostridium perfringens toxin and its purified alpha fraction. Amer. J. Path. **50**, 89—107 (1967).
- Unnik, A. J. M. van: Inhibition of toxin production in Clostridium perfringens in vitro by hyperbaric oxygen. Antonie v. Leeuwenhoek **31**, 181—186 (1965).
- Wells, F. R.: The site of vascular response to the α -toxin of Clostridium perfringens type A in skeletal muscle. Brit. J. exp. Path. **53**, 445—456 (1972).
- Zeissler, J., Krauspe, C., Rassfeld-Sternberg, L.: Die Gasödeme des Menschen, 3 Bde. Darmstadt: Dr. Steinkopf, 1958 u. 1960.

Dr. med. E. Kaiserling
Pathologisches Institut der Universität
D-2300 Kiel
Hospitalstr. 42
Bundesrepublik Deutschland