

# ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAPHICA

Editor: G. WOLF

---

*E 2055/1974*

**Leukozyten**

**Homo sapiens**

**Morphologische Veränderungen unter Einwirkung  
von Leukozidin aus *Pseudomonas aeruginosa* in vitro**

Mit 3 Abbildungen

GÖTTINGEN 1974

---

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM



**Leukozyten**  
**Homo sapiens**  
**Morphologische Veränderungen unter Einwirkung**  
**von Leukozidin aus *Pseudomonas aeruginosa* in vitro**

W. SCHARMANN, Gießen

**Allgemeine Vorbemerkungen<sup>1</sup>**

**Bedeutung von *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* zählt heute zu den „Problemkeimen“ unserer Kliniken. Die gegen die meisten Antibiotika und viele Desinfektionsmittel resistenten Bakterien persistieren in Ausgüssen, Eßgeschirren und Urinflaschen von Krankenhäusern und werden häufig auch in ungenügend sterilisierten Kathetern, Spritzen und Infusionslösungen nachgewiesen (NOBLE und WHITE [10]). Auf diese Weise kann es bei Patienten zu einer *Pseudomonas*-Infektion kommen, aus der sich bei Personen mit geschwächter Immunabwehr nicht selten eine tödlich verlaufende Sepsis entwickelt. Gefährdet sind vor allem Patienten mit Leukämie und großflächigen Brandwunden sowie Individuen, die mit Cytostatika und Immunsuppressiva behandelt wurden (LOWBURY [8], ARMSTRONG et al. [1]). Auch in vielen Kinderkliniken, vor allem in der Neugeborenen-Abteilung, stellen *P. aeruginosa*-Infektionen eine gefürchtete Komplikation dar (RUBBO et al. [11]).

Über die Mechanismen, mit deren Hilfe die Mikroorganismen ihre schädigende Wirkung auf den Wirt ausüben, bestehen bisher nur Vermutungen. Die Bildung eines Exotoxins konnte bisher nur bei einem bestimmten *P. aeruginosa*-Stamm nachgewiesen werden (LIU [7]). Auch über das Endotoxin ist erst wenig bekannt (DYKE und BERK [3]). Von den zahlreichen extrazellulären Enzymen, die von *P. aeruginosa* gebildet werden, ist vor allem der Protease (MEINKE et al. [9]) und der Lecithinase (LIU [6]) eine Beteiligung am Krankheitsgeschehen zugeschrieben worden.

---

<sup>1</sup> Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft. — Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 8.

Das Krankheitsbild der *Pseudomonas*-Sepsis unterscheidet sich von septischen Erkrankungen, die von Enterobakterien hervorgerufen werden, teilweise durch das Fehlen einer Leukozytose (HELM und STILLE [4]) oder in einigen Fällen sogar durch das Vorliegen von Leukopenie (TZEYING et al. [14]). Auch bei lokalen Infektionen können die Leukozyten im Wundgebiet fehlen oder verringert sein (HUBBARD et al. [5]). Während bisher diese Erscheinungen mit der Wirkung des Endotoxins erklärt wurden, konnte der vor kurzem geführte Nachweis (SCHARMANN et al. [12]) eines Leukozidins bei verschiedenen *P. aeruginosa*-Stämmen auf eine weitere mögliche Ursache der Leukozytenschädigung durch *P. aeruginosa* hinweisen.

### Leukozide Substanzen

Eine ganze Reihe von Bakterienarten bilden leukozide Substanzen, d. h. Stoffe, die Leukozyten zerstören. Zumeist handelt es sich um Hämolytine, die außer Leukozyten auch Erythrozyten und häufig noch andere Zellarten schädigen. Daneben ist jedoch auch ein spezifisches Leukozidin bekannt, das allein weiße Blutkörperchen angreift und gegenüber allen anderen Zellen keine toxische Wirkung ausübt. Dieses „Panton-Valentine-Leukozidin“ wird von *Staphylococcus aureus* während des Bakterienwachstums ausgeschieden und zerstört die Leukozyten durch Konformationsänderung eines Bestandteiles der Leukozytenmembran, des Triphosphoinositids (WOODIN [13], vergl. auch SCHARMANN [16]).

### Das Leukozidin von *Pseudomonas aeruginosa*

Mit dem Leukozidin von *P. aeruginosa* wurde ein weiteres Toxin entdeckt, das eine irreversible Schädigung von Leukozyten bewirkt, ohne rote Blutkörperchen anzugreifen. Im Gegensatz zum Staphylokokken-Leukozidin ist das Pseudomonaden-Leukozidin jedoch Bestandteil der Bakterienzelle und wird erst nach der Autolysis der Bakterien frei. An der Freisetzung des Toxins ist die zelleigene Protease maßgeblich beteiligt, da das Leukozidin in der Bakterienzelle als unwirksames „Protoxin“ vorliegt und erst durch proteolytische Abspaltung seine toxische Aktivität erlangt. Das aktive Toxin ist ein Protein und besitzt ein Molekulargewicht von etwa 32500 und einen isoelektrischen Punkt von 5,0.

Unmittelbar nach der Zugabe von Leukozidin zu einer Leukozyten-Suspension erfolgt die Adsorption des Toxins an die Zellmembran. Wahrscheinlich bewirkt das Toxin sogleich darauf eine Veränderung der Membrandurchlässigkeit des Leukozyten und damit den Zusammenbruch der osmotischen Barriere der Zelle, da etwa 10 Sekunden nach der Toxinadsorption als erstes Zeichen der Zellschädigung ein zunehmender Verlust an Kaliumionen auftritt. Zugleich kommt es zu einer

vermehrten Wasseraufnahme der Zellen. Die eigentliche Wirkung des Leukozidins dürfte auf dieser Permeabilitätsveränderung der Membran beruhen und alle folgenden Veränderungen der Leukozyten sekundärer Natur sein.

Die ersten mikroskopisch sichtbaren Veränderungen der leukozidingeschädigten Zelle — die im Film gezeigten „Zellausstülpungen“ — werden unter optimalen Versuchsbedingungen etwa 50 Sekunden nach Hinzufügen des Leukozidins sichtbar. Der weitere Ablauf der morphologischen Veränderungen ist gekennzeichnet durch ein zunehmendes Anschwellen der Leukozyten, so daß diese schließlich kreisrund und doppelt so groß wie die ursprünglichen Zellen erscheinen. Die Zellmembran der leukozidingeschädigten Zellen bleibt erhalten, im Gegensatz dazu führt das Hämolyse des gleichen Pseudomonaden-Stammes zur Ruptur der Leukozyten (SCHARMANN et al. [12], [15]). Das Verhalten der Granula und des Zellkerns nach Leukozidineinwirkung ist von der Anwesenheit von Calciumionen abhängig. Enthält der Versuchsansatz kein Calcium, so nimmt der ursprünglich gelappte Kern wie die Zelle eine kreisrunde Gestalt an und bleibt erhalten. Die Granula erscheint vergrößert und gleichmäßig über die ganze Zelle verteilt. Läßt man Leukozidin jedoch mit  $\text{Ca}^{++}$  (1 mM) auf die Zellen einwirken, so verschwindet der zunächst ebenfalls kreisrund angeschwollene Kern nach einiger Zeit, und die Granula aggregieren zumeist in der Nähe der Zellmembran, um dann ebenfalls nach und nach zu verschwinden. Derartige Zellen erscheinen im Endstadium als leere, meist runde Blasen. In vitro-Versuche ergaben, daß durch Leukozidin bei Anwesenheit von  $\text{Ca}^{++}$  in weit höherem Maße lysosomale Enzyme freigesetzt wurden als bei Fehlen des  $\text{Ca}^{++}$ .

### Filmbeschreibung<sup>1</sup>

#### *Leukozyten im Vitalpräparat*

24 B / s

Polymorphkernige Granulozyten bewegen sich mittels Pseudopodien zwischen zahlreichen Erythrozyten. Die physiologische Granulaströmung ist mit der Zellbewegung koordiniert.

#### *Zugabe von Leukozidin*

24 B/s bis 1 B/s

Durch die Zugabe von Leukozidin entsteht im Präparat eine Strömung, welche die Erythrozyten zur Seite schwemmt, während die Granulozyten infolge ihrer Haftung am Glas fixiert bleiben.

<sup>1</sup> Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

Der Ablauf der durch Leukozidin bewirkten cytotoxischen Schädigung wird zunächst in einzelnen Phasen gezeigt und danach in toto wiederholt.

1. Stadium: Die Zellbewegung hört auf, die Pseudopodien werden eingezogen, die Zellen runden sich ab. Die physiologische Granulaströmung geht in ungeordnete Brown'sche Molekularbewegung über.

2. Stadium: „Exzitationsstadium“. An verschiedenen Stellen der abgerundeten Zellen treten plötzlich schnell aufeinanderfolgende bläschenförmige Membranausstülpungen auf, die sogleich wieder eingezogen

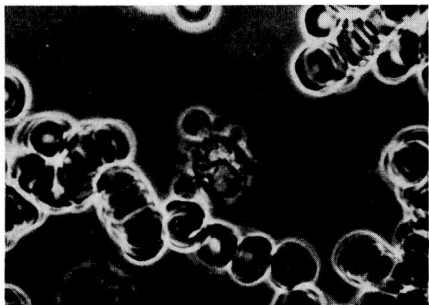


Abb. 1. „Exzitationsstadium“

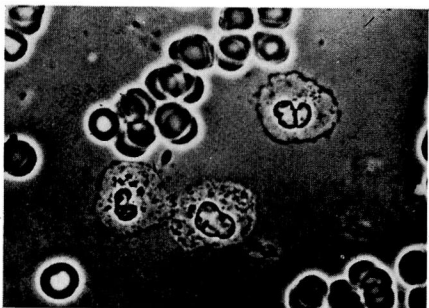


Abb. 2. Leukozyten, die sich allmählich abrunden



Abb. 3. Degranulierte Zellen; die Konstrukturen verschwinden

werden. Meist enthalten die Bläschen Granula, die sich in Brown'scher Molekularbewegung befinden (Abb 1). Der Kern, noch gelappt, tritt deutlicher hervor, auch die Granula im Cytoplasma ist in heftiger Bewegung. Das Nachlassen der Zellausstülpungen leitet über zum

3. Stadium: „Finalstadium“. Man sieht im Film mehrere Leukozyten nebeneinanderliegen, die sich allmählich abrunden (Abb. 2). Die Kerne, zunächst teilweise noch stabförmig, werden kreisrund und verschwinden schließlich. (Der Versuchsansatz wurde mit Calcium ausgeführt.) Auch die Anzahl der Granula nimmt ab, so daß von den Zellen schließlich nur noch leere, abgerundete Blasen übrig sind (Abb. 3).

### [Literatur und Filmveröffentlichungen

- [1] ARMSTRONG, D., L. S. YOUNG, R. D. MEYER and A. H. BLEVINS: Infectious complications of neoplastic disease. *Med. Clin. North. Am.* **55** (1971), 729—745.
- [2] CASELITZ, F. H.: *Pseudomonas-Aeromonas* und ihre humanmedizinische Bedeutung. In: Monographie über *Pseudomonas aeruginosa*. Fischer-Verlag, Jena 1967.
- [3] DYKE, J., and R. S. BERK: Characterization of endotoxin from *Pseudomonas aeruginosa*. *Bact. Proc.* (1971), 95.
- [4] HELM, E., und W. STILLE: Klinik und Therapie der Sepsis durch *Pseudomonas aeruginosa*. *Dtsch. med. Wschr.* **97** (1972), 1584—1589.
- [5] HUBBARD, J. D., H. KING and P. R. BEAMER: The pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa*. *Am. J. Clin. Pathol.* **28** (1957), 243—257.
- [6] LIU, P. V.: The roles of various fractions of *Pseudomonas aeruginosa* in its pathogenesis. II Effect of lecithinase and protease. *J. Infect. Dis.* **116** (1966), 112—116.
- [7] LIU, P. V.: Exotoxins of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Infect. Dis.* **128** (1973), 506—526.
- [8] LOWBURY, E. J. L.: Control of infection with gram-negative bacteria in patients with special risk. *Proc. roy. Soc. Med.* **64** (1971), 986—988.
- [9] MEINKE, G., J. BARUM, B. ROSENBERG and R. S. BERK: In vivo studies with the partially purified protease (elastase) from *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immunity* **2** (1970), 583—589.
- [10] NOBLE, W. C., and P. M. WHITE: Pseudomonads and man. *Transactions St. John's Hosp. Dermat. Soc.* **55** (1969), 202—208.
- [11] RUBBO, S. D., J. F. GARDNER and J. C. FRANKLIN: Source of *Pseudomonas aeruginosa* infection in premature infants. *J. Hyg. Camb.* **64** (1966), 121—128.
- [12] SCHARMANN, W., K. KÖSTER und H. BLOBEL: Wirkungen von Leukozidin und Hämolyisin von *Pseudomonas aeruginosa* auf Granulozyten. *Zbl. Vet. Med.* **20** (1973), 199—205.
- [13] WOODIN, A. M.: Staphylococcal leukocidin, p. 327—355. In: *AJL, S. I., S. KADIS and T. C. MONTIE* (eds.), *Microbial toxins*, Vol. 3. Academic Press, New York 1970.

- [14] TZE-YING, T., WANG FU and YUAN MAN: *Pseudomonas aeruginosa* septicemia. *Chin. Med. J.* **83** (1964), 395—401.
- [15] SCHARMANN, W.: Leukozyten, *Homo sapiens* — Morphologische Veränderungen unter Einwirkung von Hämolsin aus *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. Film E 2056 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1974.
- [16] SCHARMANN, W.: Leukozyten, *Bos taurus* — Morphologische Veränderungen unter Einwirkung von Leukozidin aus *Staphylococcus aureus* in vitro. Film E 2054 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1974.

*Anschrift des Verfassers:*

Dr. W. SCHARMANN, Institut für Bakteriologie und Immunologie an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität Gießen, 6300 Gießen, Schubertstr. 1

---

### Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1974 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß, 70 m, 6½ min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1972. Veröffentlichung aus dem Institut für Bakteriologie und Immunologie an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Gießen, Dr. W. SCHARMANN, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K. H. HÖFLING; Aufnahme: C. LUDWIG.

### Inhalt des Films

Der Film zeigt die Schädigung von polymorphkernigen Granulozyten des Menschen durch gereinigtes Leukozidin von *Pseudomonas aeruginosa* (Stamm 158). Die cytotoxische Wirkung läuft in drei aufeinanderfolgenden Phasen ab.

### Summary of the Film

The film shows the damage to human polymorphonuclear granulocytes caused by purified leucocidin from *Pseudomonas aeruginosa* (strain 158). The cytotoxic effect occurs in three consecutive phases.

### Résumé du Film

Ce film montre l'atteinte de granulocytes d'origine humaine et à noyaux polymorphes, du fait de la leucocidine purifiée provenant de *Pseudomonas aeruginosa* (souche 158). L'effet cytotoxique se déroule en trois phases consécutives.