

Rauchverhalten und Zytologie der Raucherzellen

Ch. Reiter

Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Wien, Sensengasse 2, A-1090 Wien, Österreich

Smoking Habits and Cytology of Smoker Cells

Summary. Cytological examinations of lung impression preparations from 131 smoker lungs revealed that the content of smoker cells within lung tissue increases up to a daily consumption of 40 cigarettes. Additional cigarette consumption does not raise the number of smoker cells further. Determination of the nuclei content in the smoker cells of groups with different consumption rates showed that the number of macrophages with more than two nuclei increases in proportion to the number of cigarettes smoked. If more than 50 cigarettes a day were smoked, many multinucleated giant cells were observed. Anamnestic inquiries proved that these cytological changes in the lungs were caused exclusively by the smoking habits of the deceased. Not only the number of cigarettes used per day, but also the manner of inhalation and peculiarities of cigarette smoking are reflected in the morphological changes of lung tissue. For the forensic pathologist, examination of lung impression preparations from smoker lungs makes it possible to note the quantity of daily cigarette consumption of a dead person to help to identify the deceased.

Key words: Inhalation smoking, cytology – Macrophages, smoking habits

Zusammenfassung. Zytologische Untersuchungen von Lungenabklatschpräparaten aus 131 Raucherlungen konnten zeigen, daß der Gehalt des Lungengewebes an Raucherzellen bei einem täglichen Zigarettenkonsum bis ca. 40 Stück zunimmt. Ein darüber hinausgehender Zigarettenkonsum bewirkt keine weitere Vermehrung der Raucherzellzahl. Bestimmungen der Kerngehalte der Raucherzellen der unterschiedlichen Konsumgruppen ergaben parallel zur Zunahme des Zigarettenkonsums eine Vermehrung der mehr als zweikernigen Makrophagen. Ab einem täglichen Konsum von mehr als 50 Zigaretten pro Tag kommt es zur massiven Ausbildung vielkerniger Riesenzellen. Anamnestic Erhebungen konnten ergänzend belegen, daß diese zytologischen Veränderungen im Lungengewebe ausschließlich auf das Rauchverhalten der jeweiligen Person zurückzuführen

sind. Nicht nur die Zahl der täglich verbrauchten Zigaretten, sondern auch das Inhalationsverhalten und Eigenheiten beim Zigarettenkonsum spiegeln sich im morphologischen Befund wider. Die Untersuchung eines Abklatschpräparates von der Lungenschnittfläche bietet dem forensischen Mediziner die Möglichkeit auch quantitative Angaben über den Zigarettenkonsum eines Verstorbenen zum Zweck der Identifikation zu machen.

Schlüsselwörter: Inhalationsrauchen, Zytologie – Makrophagen, Rauchverhalten

Inhalation von Zigarettenrauch bewirkt eine Häufung von Makrophagen in den Alveolen und den tiefen Luftwegen [6, 7, 9, 11]. Diese Alveolarmakrophagen enthalten unterschiedlich große, braungelbe Pigmentkörnchen, welche sich elektronenoptisch als osmiophile Phagolysosomen erweisen [5, 7, 10]. Untersuchungen über die Darstellbarkeit dieser Pigmentkörnchen mit unterschiedlichen Färbemethoden konnten aufzeigen, daß sich die Granula dieser als Raucherzellen bezeichneten Makrophagen selbst nach Paraffineinbettung – also nach Einwirken von Fettlösungsmitteln (Äthylalkohol und Xylol) – mit Fettfarbstoffen darstellen lassen [11]. Die Einschlößkörperchen zeichnen sich weiters durch eine starke grünorange Eigenfluoreszenz im UV-Mikroskop und durch Säurefestigkeit bei Ziehl-Neelson-Färbung aus [11]. Die starke, unspezifische Esterase-Reaktion untermauert die monozytäre Herkunft der Raucherzellen. Diese charakteristischen histologischen Nachweismethoden ermöglichten es, eingehende Untersuchungen über die Verteilung der Raucherzellen im Lungengewebe anzustellen. Dabei zeigte es sich, daß die Raucherzellen diffus im gesamten Lungengewebe – Alveolen, Interstitium und lymphatischen Gewebe – vorkommen, wobei es häufig zu kleinen Gruppenbildungen dieser sudanophilen Alveolarmakrophagen kommt. Abhängig vom Umfang des Zigarettenkonsums fiel eine deutliche Vermehrung der Raucherzellen in Gewebsschnitten aus Lungen verstorbener Raucher auf [11]; eine Eigentümlichkeit, die auch bei rauchinhalierenden Versuchstieren beschrieben wurde [2, 6, 7]. Die einfach durchzuführenden und charakteristischen Färbereaktionen, welche auch an Abklatschpräparaten anwendbar sind, ermöglichen es, die Zusammenhänge zwischen zytologischen Veränderungen der Alveolarmakrophagen und dem Rauchverhalten noch eingehender darzustellen.

Material und Methode

Im Rahmen von ca. 1000 Obduktionen im Jahre 1984 wurden bei der Lungensektion von der frischen Lungenschnittfläche des rechten Unterlappens Abklatschpräparate angefertigt. Bei der Ausfolgung der Totenscheine an die Angehörigen fand eine eingehende Befragung über den täglichen Zigarettenkonsum während der letzten Lebensjahre und über etwaige Besonderheiten des Rauchverhaltens statt. Zur statistischen Auswertung kamen nur 613 Fälle, bei denen eine genaue Rauchanamnese erhebbar war.

Dieses Kollektiv beinhaltete 55,9% Männer – durchschnittliches Lebensalter: 55,5 Jahre – und 44,1% Frauen – durchschnittliches Lebensalter: 60,6 Jahre. 45% waren Nichtraucher, 14,8% Exraucher, 40,2% Raucher. Von den letzteren waren 98,1% Zigarettenraucher, der

Rest entfiel auf Zigarren- oder Pfeifenraucher. 16,2% der 241 Zigarettenraucher konsumierten täglich bis 10 Zigaretten, 28,2% 11–20 Stück, 43,6% 21–40 Stück, 9,5% 41–60 Stück und 2,5% mehr als 60 Zigaretten pro Tag.

Für die gegenständlichen zytologischen Untersuchungen konnten nur 131 Abklatschpräparate aus Raucherlungen ausgewertet werden, welche einen guten Erhaltungszustand der Kernbilder und des Zytoplasmas aufwiesen. In diesem Raucherkollektiv waren 93 Männer – durchschnittliches Lebensalter: 57,5 Jahre – und 38 Frauen – durchschnittliches Lebensalter: 62,2 Jahre – enthalten. 20 Personen hatten bis 10 Zigaretten konsumiert, 36 Personen 11–20 Stück, 57 Personen 21–40 Stück, 16 Personen 41–60 Stück und 2 Personen, die mehr als 60 Zigaretten pro Tag konsumiert hatten.

Die luftgetrockneten Proben gelangten zur Extraktion der Lipide für die Dauer einer Viertelstunde in 96%iges Äthanol und anschließend einige Minuten in Xylol. Nach Abdampfen der Lösungsmittel erfolgte die Färbung der Präparate in einer gesättigten Fettrot-Propylen glykol-Lösung für die Dauer von 30 Min [8]. Nach Wässerung in Leitungswasser und anschließender Kernfärbung in Hämalaun wurden die Imprints mit Gelatin-Glycerin eingedeckt. Die Abklatschmethodik schien geeigneter als die histologische Technik, da sie zeitlich und materiell nicht so aufwendig ist, aber trotzdem das Zellmaterial jener Fläche, von der das Präparat angefertigt wurde, in gleicher Zusammensetzung wie in feingeweblichen Schnitten repräsentiert. Als weiteren Vorteil gegenüber der Schnittechnik erfaßt das Abklatschpräparat eine größere Schichtdicke und enthält daher wesentlich mehr Zellmaterial als der dünne Gewebsschnitt. Zudem sind die Zelleiber in ihrer Gesamtheit erhalten und sowohl die tatsächlichen Zellgrößen als auch die Kernzahl erhebbare. Als Nachteil der Abklatschmethode erweist sich die nicht gleichmäßige Dicke der Zellagen. Zur Ermittlung der durchschnittlichen Zahl der Raucherzellen pro Flächeneinheit eines Imprints wurden daher nur jene Abschnitte des Präparates ausgewertet, die nur eine Zelle aufwiesen und bei denen der Abstand zwischen den einzelnen Zellen nicht größer als der Durchmesser eines roten Blutkörperchens war. Pro Präparat wurden bei 200facher Vergrößerung 30 Gesichtsfelder (Durchmesser 0,70 mm) ausgezählt. Zur Ermittlung der Kernbilder wurden pro Präparat ca. 300 Zellen mit Ölimmersion bei 1000facher Vergrößerung untersucht.

Ergebnisse

Zellhäufigkeit

Aus den erhobenen Werten der 30 Gesichtsfelder pro Präparat wurde der Mittelwert des Gehaltes an Raucherzellen pro Gesichtsfeld berechnet. Mit Hilfe dieser Durchschnittswerte aus 131 Raucherlungen ließ sich für die jeweilige Gruppe mit gemeinsamen täglichen Zigarettenkonsum ein Mittelwert an Raucherzellen pro Gesichtsfeld sowie die Standardabweichung vom Mittelwert (s) bestimmen. Die derart erhobenen Werte für die durchschnittliche Anzahl der Raucherzellen pro Gesichtsfeld sind in Tabelle 1 aufgelistet und stellen die Grundlage für den Kurvenverlauf der Abb. 1 dar. Daraus ist zu ersehen, daß die Zahl der Raucherzellen im Lungengewebe bis zu einer täglichen Stückzahl von 30 Zigaretten nahezu linear zunimmt. Bei umfänglicherem Zigarettenverbrauch tritt keine wesentliche Vermehrung der Zellzahl ein. Um die Verteilung der Einzelfälle in der jeweiligen Konsumgruppe besser zu veranschaulichen, schien eine Darstellung in Form eines Blockdiagrammes (Abb. 2) angebracht.

Kerngehalt

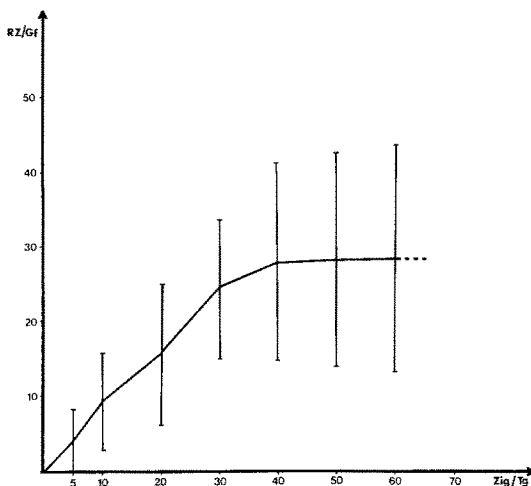
Die Untersuchung der Kernbilder war darauf ausgerichtet, bei den jeweils 300 ausgewerteten Zellen pro Präparat die prozentuellen Anteile der einkernigen,

Tabelle 1. Durchschnittliche Anzahl der Raucherzellen pro Gesichtsfeld

		Anamnestisch erhobener, täglicher Zigarettenkonsum						
		- 5	- 10	- 20	- 30	- 40	- 50	- 60
RZ/Gf	\bar{x}	4,2	9,2	15,4	24,2	28,0	28,8	29,2
	s	6,0	6,6	9,5	9,2	13,3	14,4	15,2
1 K (%)	\bar{x}	90,3	88,8	87,3	86,3	86,1	84,8	81,3
	s	0,8	7,8	5,3	4,8	4,6	4,2	3,3
2 K (%)	\bar{x}	8,8	10,0	11,0	11,1	11,2	11,9	15,1
	s	2,1	4,0	3,2	3,0	2,9	2,5	2,7
> 2 K (%)	\bar{x}	0,9	1,2	1,7	2,6	2,7	3,3	3,6
	s	1,2	1,8	1,9	1,5	1,2	2,2	2,5
> 3 K (%)	\bar{x}	0,3	0,4	0,45	0,5	0,65	0,7	1,95
	s	0,5	0,3	0,4	0,5	0,6	0,6	1,6

RZ/Gf \bar{x} = Mittelwerte des Gehaltes an Raucherzellen pro Gesichtsfeld bei 200facher Vergrößerung; s = Standardabweichung vom Mittelwert

1 K, 2 K, > 2 K, > 3 K (%) \bar{x} = Mittelwerte des prozentuellen Anteiles der 1kernigen bzw. 2kernigen bzw. mehr als 2kernigen bzw. mehr als 3kernigen Raucherzellen; s = Standardabweichung vom Mittelwert

**Abb. 1.** Zusammenhänge zwischen täglichem Zigarettenkonsum und Anzahl der Raucherzellen pro Gesichtsfeld; Mittelwertskurve mit Standardabweichungen

zweikernigen, mehr als zweikernigen und mehr als dreikernigen Makrophagen zu erfassen. Diese prozentuelle Verteilung wurde für jeden untersuchten Einzelfall ermittelt und für die jeweilige Konsumgruppe die Mittelwerte der Kerngehalte und deren Standardabweichungen von den Mittelwerten berechnet. Nach Darstellung der erhobenen Werte (Tabelle 1) in Form eines Blockdiagrammes (Abb. 3) ist zu erkennen, daß der Anteil der mehr als zweikernigen Makrophagen mit steigendem Zigarettenkonsum ständig zunimmt. Die Zahl der einkernigen Makrophagen nimmt parallel dazu deutlich ab. Während es mit Zunahme des Zigarettenkonsums bis 50 Stück pro Tag nur geringfügig zur Steigerung des Gehaltes an mehr als dreikernigen Makrophagen kommt, tritt ab

Abb.2. Prozentuelle Verteilung der Raucherzellgehalte pro Gesichtsfeld innerhalb der einzelnen Konsumgruppen

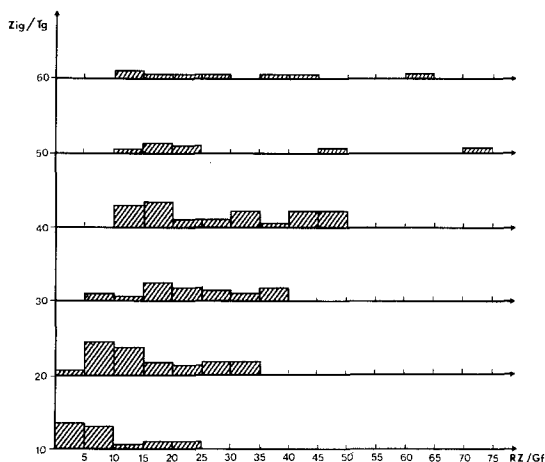
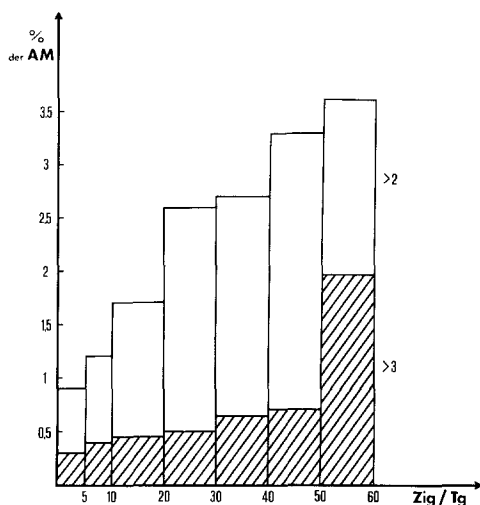


Abb.3. Zusammenhänge zwischen täglichem Zigarettenkonsum und prozentuellem Anteil der mehr als zweikernigen bzw. mehr als dreikernigen Raucherzellen im Lungengewebe



einem täglichen Verbrauch von mehr als 50 Zigaretten eine abrupte Vermehrung der vielkernigen Raucherzellen ein. Obwohl im Rahmen der gegenständlichen Untersuchung die Kernbilder vieler tausender Raucherzellen durchmustert worden waren, konnten bislang nur in zwei Zellen mitotische Teilungen angetroffen werden.

Diskussion

Alle bisherigen Untersuchungen belegen, daß Inhalationsrauchen eine Häufung von Alveolarmakrophagen im Lungengewebe nach sich zieht. Aufgrund ihrer Morphologie und zytochemischen Eigenschaften scheint ihr Ursprung von den Monozyten des Blutes festzustehen [4, 13]. Die außerordentliche Seltenheit

von Mitosen dieser monozytären Zellen in den Luftwegen spricht dafür, daß eine Vermehrung der Makrophagen in der Peripherie nur selten vorkommt [3] und der überwiegende Teil dieser Zellen aus dem Blutstrom in das Lungengewebe und insbesondere in die Alveolen auswandert. Der Alveolarmakrophage des Rauchers enthält im Zytoplasma zahlreiche, unterschiedlich große, sudanophile Körnchen, denen eine schwer extrahierbare, lipoides Substanz zugrunde liegt [12]; ob dieser Substanzenkomplex das auslösende Agens für die Emigration der Makrophagen in die Alveolen darstellt, ob dies durch inhalierte Silikate aus der Tabakpflanze [1] oder durch eine andere Noxe bewirkt wird, ist noch ungeklärt. Die vorliegenden Ergebnisse der Raucherzellzählungen verdeutlichen jedoch, daß der Organismus bis zu einem bestimmten Ausmaß des Zigarettenkonsums mit einer adäquaten Steigerung der unspezifischen zellulären Abwehr schritthält. Ab einem täglichen Konsum von 40 Zigaretten dürfte entweder die Anlieferung monozytärer Zellen nicht zu steigern sein, oder der Organismus bedient sich zur Erhöhung der Phagozytoseleistung der nunmehr zur Ausbildung kommenden, vielkernigen Riesenzellen. Dafür würde auch die generelle Zunahme der Kernzahl der Raucherzellen bei steigender Belastung der peripheren Luftwege mit Rauchinhaltsstoffen sprechen.

Bei eingehender Betrachtung des Blockdiagrammes (Abb. 2) fällt auf, daß sich ab einem Zigarettenkonsum von 40 Stück pro Tag das Raucherkollektiv in drei Hauptmaxima aufspaltet, von denen das eine ein unterdurchschnittliches Ausmaß an Raucherzellen in den peripheren Luftwegen aufweist, eines durchschnittliche Raucherzellzahlen enthält und im dritten Teilkollektiv der Raucherzellgehalt weit über dem Durchschnitt liegt. Die Auswertung der erhobenen Rauchanamnesen und die z. T. nochmals durchgeführte Befragung der Angehörigen ergaben, daß jene mit überdurchschnittliche hohen Raucherzellzahlen behafteten Personen meist sehr nervös waren, vor ihrem Tod unter starken psychischen Belastungen standen, die Zigaretten bis zum Filter aufbrauchten und auch heftig inhalierten. Auffällig war auch, daß dieses Kollektiv den höchsten Prozentsatz an Selbstmördern aufwies. Die Gruppe der starken Raucher mit unterdurchschnittlichen Raucherzellzahlen beinhaltete jene Personen, die den Zigarettenkonsum bewußt genossen und auch die Zigaretten frühzeitig ausdämpften, oder sie gehörten jener Personengruppe an, die meist in Eile immer wieder Zigaretten zu rauchen begannen, diese jedoch von selbst verglimmen ließen oder sie vorzeitig ausdämpften. Diese Erkenntnisse zeigen, daß das Ausmaß der zytologischen Veränderungen in den peripheren Luftwegen nicht so sehr von der Zahl der täglich verbrauchten Zigaretten abhängt, sondern vielmehr das Rauchverhalten der jeweiligen Person widerspiegelt. Die Anzahl der Raucherzellen im Lungengewebe und das Kernbild liefern daher einen objektiven Befund über das Ausmaß der tatsächlichen Wirkung des Zigarettenrauches am Organismus.

Dem forensischen Mediziner bietet die Untersuchung eines Lungenabklatschpräparates die Möglichkeit, bei der Identifizierung unbekannter Personen Angaben über den tatsächlichen Zigarettenkonsum oder über das Rauchverhalten des Betroffenen machen zu können. Dem Pathologen kann das Ausmaß der Lungenreaktion auf die inhalierten Inhaltsstoffe als objektiver Ausgangsparameter für die tatsächliche Rauchauswirkung bei epidemiologischen

Untersuchungen über Tabakkonsum und Pathogenese diverser Erkrankungen dienlich sein.

Literatur

1. Brody AR, Craighead JE (1975) Cytoplasmic inclusions in pulmonary macrophages of cigarette smokers. *Lab Invest* 32:125–132
2. Davies P, Sornberger C, Huber GL (1977) The stereology of pulmonary alveolar macrophages after prolonged experimental exposure to tobacco smoke. *Lab Invest* 37:297–306
3. Evans MJ, Cabral LJ, Stephens RJ, Freeman G (1973) Cell division of alveolar macrophages in rat lungs following exposure to NO₂. *Am J Path* 70:199–205
4. Golde DW, Byers LA, Finley TN (1974) Proliferative capacity of human alveolar macrophage. *Nature* 247:373–375
5. Harris JO, Swenson EW, Johnson JE III (1970) Human alveolar macrophages: comparison of phagocytic ability, glucose utilization and ultrastructure in smokers and nonsmokers. *J Clin Invest* 49 II:2086–2096
6. Hoidal JR, Niewoener DE (1982) Lung phagocyte recruitment and metabolic alternations induced by cigarette smoke in humans and in hamsters. *Am Rev Respir Dis* 126:548–552
7. Matulionis DH, Traurig HH (1977) In situ response of lung macrophages and hydrolase activities to cigarette smoke. *Lab Invest* 37:314–326
8. Pearse AGE (1982) *Histochemistry*. J and A Churchill, London
9. Pratt SA, Finley TN, Smith MH, Ladman AJ (1969) A comparison of alveolar macrophages and pulmonary surfactant (?) obtained from the lungs of human smokers and nonsmokers by endobronchial lavage. *Anat Rec* 163:497–507
10. Pratt SA, Smith MH, Ladman AJ, Finley TN (1971) The ultrastructure of alveolar macrophages from human cigarette smokers and nonsmokers. *Lab Invest* 24:331–338
11. Reiter C (1983) Chromolipoidspeicherung in Alveolarmakrophagen: Ein Agnosierungsmerkmal für Zigarettenraucher. *Z Rechtsmed* 91:37–46
12. Reiter C (1985) Fluorescence test to identify deep smokers. *For Sci* (im Druck)
13. Sutton JS, Weiss L (1966) Transformation of monocytes in tissue culture into macrophages, epitheloid cells, and multinucleated giant cells. *J Cell Biol* 28:303

Eingegangen am 14. Juni 1985