

(Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie der staatlichen Universität,  
Tomsk.)

## Prospektive Potenzen des Myeloblasten auf Grund von Explantationsversuchen\*).

Von

Prof. Dr. A. D. Timofejewsky und Dr. S. W. Benewolenskaja.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. September 1926.)

### 1. Einleitung.

Unter dem Namen „Myeloblast“ verstehen die Hämatologen-Dualisten eine besondere Zellform, welche im myeloischen System des Organismus vorkommt und durch fortwährende Differenzierung gekörnte Leukocyten hervorbringt. Die Benennung Myeloblast ist schon 1900 von *Naegelei*<sup>1)</sup> wissenschaftlich eingeführt worden. Mit diesem Namen wollte er die Selbständigkeit des Myeloblasten betonen und ihn vom Lymphocyten, welchem er morphologisch sehr ähnlich ist, trennen. Gleich dem Lymphocyten hat der Myeloblast einen runden oder buchtenförmigen Kern, welcher von einem schmalen Saum basophilen Protoplasmas umgeben ist. Jedoch an trockenen Blautausstrichen, die nach modernem Verfahren gefärbt sind (*May-Giemsa*), gelingt es, einen gewissen Unterschied zwischen beiden Zellarten in der Kernstruktur aufzufinden, nämlich ein feineres, gleichmäßigeres Chromatingerüst und eine größere Anzahl von Kernkörperchen beim Myeloblasten im Gegensatz zum Lymphocyten. Übrigens muß bemerkt werden, daß an Schnitten dieser Unterschied undeutlich bleibt.

Während die weitaus meisten Kliniker in dem Myeloblasten einen besonderen myeloiden Zelltypus sehen, herrscht bei den Biologen und Experimentatoren eine andere Anschauung, nach welcher der Myeloblast nicht von Lymphocyten zu trennen ist. Hierin besteht der Hauptunterschied zwischen den Lehren der Unitarier und Dualisten. Übrigens müssen sogar Vertreter der Unitarierlehre zugeben, daß es einige feine Unterschiede in der Kernstruktur des Myeloblasten und Lymphoblasten der Dualisten gibt, welche an trocknen, gefärbten Präparaten sichtbar werden; dieselben sind aber nicht wesentlich, hängen von äußeren Da-

\*) Vorgetragen in der I. Sibirischen Ärztekonferenz am 26. IV. 1926 zu Tomsk.

seinsverhältnissen der Zellen ab und haben keinen Einfluß auf die Fähigkeit, sich in dieser oder jener Richtung zu differenzieren.

Worin die Bedeutung des Problems für die Hämatologen liegt, geht aus folgendem Zitat hervor, welches *Naegelis Lehrbuch*<sup>2)</sup> „Blutkrankheiten und Blutdiagnostik“, 1923, S. 169 entnommen ist: „In den letzten Jahren ist die Myeloblastenfrage unzweifelhaft die wichtigste in der Hämatologie geworden, weil mit der Existenz oder Nichtexistenz der Myeloblasten die Grundfrage entschieden wird, ob zwei verschiedene Systeme von Leukocyten — das lymphatische und das myeloische — bestehen und schon in ihren Stammzellen morphologisch verschieden sind.“

Trotz der unendlichen Menge an klinischen, pathologisch-anatomischen, embryologischen, vergleichend-anatomischen und experimentellen Untersuchungen können die prospektiven Potenzen der ungekörnten Leukocyten des Bluts und der blutbildenden Organe und ihre Beziehung zu den Bindegewebszellen nicht für völlig klargestellt angesehen werden. Dieses hängt damit zusammen, daß im ganzen Körper bei einer Vielartigkeit an Zellen, beim Vorhandensein aller möglicher Übergangsformen zwischen Leukocyten, es überaus schwierig ist, die genetische Abhängigkeit einzelner Formen festzustellen und ihre prospektiven Potenzen aufzuklären; hier sind verschiedene Deutungen möglich.

Mit größerer Aussicht auf Erfolg kann man zur Lösung dieser Frage auf dem Wege der Gewebsauspflanzung und -züchtung herantreten, indem man Kulturen aus diesen oder jenen Zellen anfertigt und ihre Umwandlungen außerhalb des Körpers verfolgt. Durch zahlreiche Versuche ist es ja festgestellt, daß hierbei die Zellen ihre schlummernden Eigenschaften durch erhöhtes Wachstum und Vermehrung offenbaren.

Daher erschien es aussichtsvoll, die Natur und Entwicklungsfähigkeit der Myeloblasten und ihre Beziehungen zu anderen Leukocytenformen und Bindegewebszellen in Gewebskulturen zu erforschen. Das passendste Material hierfür können weiße Blutkörperchen von Kranken mit Myeloblastenleukämie sein. Bei dieser Form von Myelose besteht ein bedeutendes Übergewicht an Myeloblasten, deren Prozentsatz sich bis 90 und höher heben kann. Wir benutzten zu unseren Untersuchungen das Blut einer Patientin, die an akuter myeloischer Leukämie litt.

Kulturen weißer Blutkörperchen *in vitro* werden überhaupt mit Erfolg zum Studium einiger hämatologischer Probleme angewandt. Zum ersten Male im Jahre 1914 hat einer von uns zusammen mit *Auroroff*<sup>3)</sup> die Explantation weißer Blutkörperchen von Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie ausgeführt, im nächsten Jahre Leukocytenkulturen von Kaninchen hergestellt<sup>4)</sup>. Etwas später erschien die Arbeit der Verfasser<sup>5)</sup> dieses Beitrags über Kulturen weißer Blutkörperchen von einem Kranken mit chronischer lymphatischer Leukämie. Erst 1922 erschien die Untersuchung *Carrels* und *Ebelings*<sup>6)</sup> über

die Explantation von Hühnerleukocyten. Späterhin beschäftigten sich *Margaret und Warren Lewis*<sup>7)</sup> und *Maximow*<sup>8, 9)</sup> mit Leukocytenkulturen verschiedener Tiere. In den Arbeiten der genannten Forscher wurden Leukocyten von verschiedenen Tieren explantiert, während Menschenleukocyten in dieser Hinsicht fast nicht studiert wurden. Wir konnten im Schrifttum keine Hinweise darauf finden, daß sich jemand außer uns mit Explantation weißer Blutkörperchen von leukämischen Kranken beschäftigt hätte; und doch können wir gerade bei einigen Formen von Leukämien fast reine Kulturen einer bestimmten Art weißer Blutkörperchen herstellen.

Es wurde schon in den Versuchen eines von uns zusammen mit *Awroroff* mit Kulturen weißer Blutkörperchen von Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie gefunden, daß Myeloblasten, welche in jenen Versuchen nur ein geringes Prozent der weißen Blutkörperchen ausmachten, imstande sind, sich *in vitro* zu anderen Zellformen, wie: Polyblasten, Klastomacyten und vielkernigen Riesenzellen zu entwickeln. In jenen Versuchen war es schwer, bei geringem Gehalt an Myeloblasten und bedeutender Beimischung anderer Zellen mit Bestimmtheit den Ursprung der Entstehung all dieser Zellformen festzustellen. Außerdem wurde in jenen Versuchen nicht die Umpflanzung in neue Nährböden angewandt, und das Leben der Zellen *in vitro* war nicht von langer Dauer.

## 2. Material und Methodik.

Das zur Explantation benutzte Blut stammte von Patientin W. S. aus der Tomsker Therapeutischen Fakultätsklinik des Prof. *Kurlow* mit der Diagnose akuter myeloischer Leukämie. Die Krankheit dauerte  $1\frac{1}{2}$  Monate und verlief mit Symptomen einer hämorrhagischen Diathese, geringer Vergrößerung der Lymphknoten und der Milz, unregelmäßigem Fieber mit remittierendem Charakter. Zweimalige bakteriologische Blutuntersuchungen fielen negativ aus. Während des Verweilens der Patientin in der Klinik wurde eine allmähliche Erhöhung der weißen Blutkörperchenzahl beobachtet.

Das Blut, welches zur Auspflanzung am 8. X. 1925, 1 Tag vor dem Tode, genommen wurde, hatte folgenden Bestand: Erythrocyten 1 700 000; Hb. 35%; Leukocyten 60 800, darunter:

Myeloblasten . . . . .	84,2
Neutrophile Promyelocyten . . . . .	2,7
Neutrophile Myelocyten . . . . .	5,8
Eosinophile Myelocyten . . . . .	0,4
Polymorphkernige Eosinophile . . . . .	0,5
Neutrophile Metamyelocyten . . . . .	1,4
Polymorphkernige Neutrophile . . . . .	1,1
Lymphocyten . . . . .	3,1
Monocyten . . . . .	0,8

Von den Myeloblasten müssen 77% für große Formen und 23% für Mikromyeloblasten angesehen werden. Die ersten besitzen einen Durchmesser von über  $15\text{ }\mu$ , während die Mikroformen nur  $10-12\text{ }\mu$  groß sind. Der Größenunterschied hing ausschließlich von der Menge des Protoplasmas ab, während Größe und Bau des Kernes bei beiden gleich war. Bei den großen Formen ist der Kern von allen Seiten von meist stark basophilem Protoplasma umgeben; bei einem Teil der Zellen ist eine feine azuropophile Körnelung vorhanden, seltener eine gröbere, manchmal auch Vakuolen. Der Kern liegt gewöhnlich exzentrisch, ist groß und oft etwas eingebuchtet. In ca. 5% der Gesamtzahl aller Myeloblasten sind Zellen mit unregelmäßigen Kernen (Riedersche Formen) zugegen. Die kleinen Formen enthalten sehr wenig Protoplasma; dasselbe ist gewöhnlich nur an einer Seite des Kernes zu sehen, vollständig nackte Kerne aber waren nicht vorhanden. Der Bau der Kerne ist für die Myeloblasten völlig charakteristisch: gleichmäßig, zart-netzförmig von scheinbar körniger Struktur, ohne grobe Basochromatinschollen und Querbalken, mit mehreren, deutlich ausgeprägten, runden Kernkörperchen, deren Zahl von 0—5 schwankte, im Durchschnitt war sie gleich 3. Zellen, die sich der Struktur ihres Kernes nach den Kleinschen<sup>10)</sup> Myelogenien nähern, waren fast nicht vorhanden. Zerfallende Formen waren selten anzutreffen. Man beobachtete alle möglichen Übergangsformen zu Promyelocyten. Es muß betont werden, daß zwischen Mikromyeloblasten und kleinen Lymphocyten, welche sich hier in 3,1% vorkanden, ein deutlicher Unterschied, sowohl bezüglich der Zellgröße (die ersten sind größer), wie auch hauptsächlich der Kernstruktur vorhanden ist.

Außer dem für die akute myeloische Leukämie charakteristischen morphologischen Blutbefund wurde die Diagnose durch die nach dem Tode ausgeführte Untersuchung der Lymphknoten bestätigt. In denselben wurde eine scharf ausgedrückte myeloide Metaplasie, mit Vorherrschenden neutrophiler und eosinophiler Myelocyten gefunden, während sich die Lymphknötchen in verkümmertem Zustande befanden. Eine Allgemeinautopsie wurde nicht vollzogen.\*)

Die Auspflanzung der Leukocyten der Patientin wurde auf gewöhnliche Weise nach der von *Auroroff* und *Timofejewsky*<sup>1)</sup> ausgearbeiteten Methodik ausgeführt:

10 ccm des der V. mediana entnommenen Blutes wurden gekühlt, mittelst elektrischer Zentrifuge gründlich ausgeschleudert, das Blutplasma wurde in eine andere Reagensröhre abgesaugt, endlich die Leukocytenschicht fast ohne Beimengung von Erythrocyten nach der Koagulation abgehoben und in Ringerscher Flüssigkeit in kleine Stückchen zerschnitten. Die Pflanzung wurde auf kleinen Glimmerplättchen in kleinen Petrischalen zu je 3 Kulturen in jeder und auf Gläs-

\*) Dem Ordinator der Patientin Herrn Dr. A. Kowalewsky drücken wir für die über die Patientin mitgeteilten Nachrichten und für seine Hilfe bei der Blutentnahme unseren verbindlichsten Dank aus.

chen mit Vertiefungen vorgenommen. Als Nährboden diente das Plasma der Patientin, das auf  $\frac{1}{3}$  mit Ringerscher Flüssigkeit verdünnt war. Ein Teil der Kulturen wurde in Kaninchenplasma gepflanzt.

Es wurden im ganzen 120 Kulturen angefertigt, deren ca.  $\frac{1}{3}$  bei der Pflanzung mit Tuberkelbacillen typus humanus infiziert wurden. Die Ergebnisse, welche an mit Tuberkelbacillen infizierten Kulturen erzielt wurden, werden wir hier nicht besprechen. Um das Leben der gepflanzten Zellen zu verlängern, wurden die Kulturen alle 2—4 Tage in Ringerscher Flüssigkeit gespült und je 1 Tropfen frischen Kaninchenplasmas hinzugefügt; das letzte war um so mehr notwendig, als um die wachsenden Zellen herum, besonders in den ersten Tagen, eine starke Verflüssigung des koagulierten Plasmas beobachtet wurde. Die Kulturen hielten wir im Thermostat bei  $38^{\circ}$ . Das Leben der ausgepflanzten Zellen dauerte etwas mehr als 1 Monat. Es wurde kein Unterschied zwischen den Kulturen auf Menschenplasma und Kaninchenplasma beobachtet.

Um systematisch die in den Kulturen vor sich gehenden Erscheinungen zu studieren, wurden außer den Untersuchungen der Kulturen *in vivo*, die letzteren, jedesmal in mehreren Exemplaren, anfangs alle 6 Stunden, nachher alle 24 Stunden in Zenker-Formol fixiert. Die Paraffinschnitte wurden nach vorhergehender Kernfärbung durch Delafields Hämatoxylin mit Azur-Eosin gefärbt. Es wurden auch diejenigen Zellen, welche auf dem Glimmerplättchen nach Abnahme des Plasmahüttchens zurückblieben, gefärbt. Die letzten Kulturen wurden in gutem Zustande 35 Tage nach der Explantation fixiert. Ungeachtet dessen, daß nur einmal die Explantation ausgeführt wurde, erhielten wir so ein reichliches Material, welches uns ein vollständiges Bild über die *in vitro* von seiten der Myeloblasten vor sich gehenden Veränderungen erschloß.

### 3. Die Kulturen.

Das Studium der lebendigen Kulturen ergibt im Vergleich zu fixierten und gefärbten Präparaten gewöhnlich wenig. Im vorliegenden Falle beobachtete man in den ersten Stunden nach der Explantation eine lebhafte Auswanderung der Zellen aus dem überpflanzten Klümpchen ins umgebende Plasma. Schon an lebendigen Kulturen beobachtete man die Zunahme der Zellen, ihre Hypertrophie, die Bildung gestreckter, mit Fortsätzen versehener Zellen, welche sich oft in der Art eines faserigen Gewebes lagerten, die Entwicklung vielkerniger Riesenzellen und dergleichen. Ebenso leicht konnte man im koagulierten Plasma die Erscheinung von Hohlräumen verschiedener Form verfolgen, welche zuweilen wie Kanäle aussahen, die mit Flüssigkeit gefüllt waren und deren Wandungen aus einer Schicht von Zellen bestanden, die oft in der Art des Gefäßendothels abgeflacht waren. Diese Kulturen charakterisierten

sich überhaupt durch ihre scharf ausgeprägte Wachstumsenergie und Zellvermehrung und Vielartigkeit der beobachteten Verwandlungen

derselben, was besonders beim Vergleich mit Kulturen weißer Blutkörperchen des normalen Blutes zu bemerken war.

Das Studium fixierter und gefärbter Präparate ermöglichte es uns, in verschiedenen Entwicklungsrichtungen die prospektiven Potenzen der Myeloblasten zu verfolgen. Beim Untersuchen fixierter und gefärbter Präparate aus 6ständigen Kulturen fanden wir ein einförmiges Bild, welches dem Befunde des gepflanzten Materials entspricht (Abb. 1 und 2).

An solchen Präparaten sind fast ausschließlich große Zellen mit runden oder etwas unregel-

Abb. 1. (Mikroph.) Schnitt aus einer 6ständigen Kultur. Zellen mit runden Kernen, die 1–2 Kernkörperchen enthalten, und mit einem schmalen Protoplasmaumfang umgeben sind, wiegen vor. Die größeren Zellen entsprechen dem Myeloblasten des Pflanzenmaterials, die kleineren — kleinen Lymphocyten. Mittl. Vergr.

mäßigen Kernen vorhanden, die von einer kleinen Menge ungekörnten basophilen Protoplasmas umgeben sind. Diese großen Zellen müssen

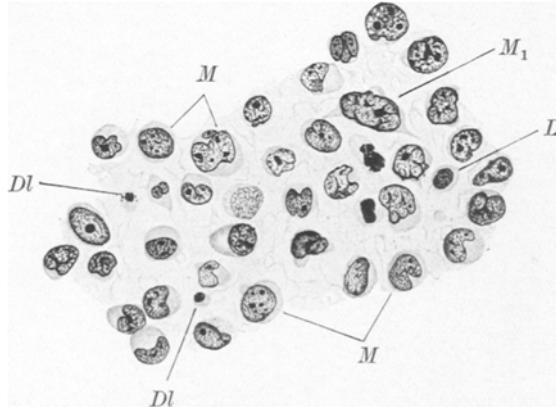


Abb. 2. Diese sowie auch alle übrigen Zeichnungen sind von bestimmten Stellen der Präparate, die mit Häm, E.-Az. gefärbt waren, mit Hilfe des Abbé'schen Zeichenapparats, bei eingeschobenem Tubus und mit Projektion in der Höhe des Objektischenschens ausgefertigt worden. Schnitt aus einer 6ständigen Kultur. Eine Zellgruppe aus dem zentralen Teil des Leukocytenstückchens. *M* = Myeloblasten; *M<sub>1</sub>* = ein sich zu dehnen anfangender Myeloblast; *L* = kleiner Lymphocyt; *Dl* = degenerierende kleine Lymphocyten. Vergr.: Obj. Reichert, hom. Imm.  $\frac{1}{12}$ , Ok. Zeiss 4 compens.

für Myeloblasten gehalten werden (Abb. 2, *M*). Zwischen ihnen befinden sich in unansehnlicher Menge kleinere Zellen mit dunkelgefärb-

ten Kernen (Abb. 2, *L*). Dieses sind Lymphocyten. Einige derselben befinden sich schon im Zustande völliger Degeneration mit Pyknose- und Zerfallserscheinungen der Kerne (Abb. 2, *Dl*). Diese Hinfälligkeit eines Teiles der kleinen Lymphocyten ist schon von *Maximow*<sup>9, 11)</sup> in Kulturen der Lymphdrüse und in Kulturen von Leukocyten des Normalblutes bemerkt worden. In 6stündigen Kulturen finden sich Granulocyten nur in geringer Menge. Somit konnten wir die Vielartigkeit an Zellformen, welche schon in den ersten Tagen in unseren Kulturen beobachtet wurde, fast ausschließlich der Äußerung latenter Potenzen von seiten der Myeloblasten zuschreiben.

In der Tat finden wir beim Untersuchen 10—15 tägiger Kulturen überaus verschiedenartige Bilder: Eine mächtige Granulopoese, das Auftauchen kleiner Lymphocyten, und zwar manchmal in bedeutender Menge, sowie Polyblasten mit weiterer Verwandlung in epithelioide, vielkernige Riesenzellen, oder auch in ruhende Wanderzellen vom Typus der Klastmatocyten und endlich die Entwicklung von Zellen, welche all ihren morphologischen Eigenschaften nach den Fibroblasten zugeordnet werden können.

Eine Entwicklung von Granulocyten aus Myeloblasten geht in geringem Ausmaß schon in den ersten Tagen nach der Explantation vor sich (Abb. 12, *Em*). Eine besonders üppige Granulopoese beobachteten wir in einigen Kulturen im Laufe der zweiten Woche nach der Explantation. Dieselbe erreichte ihre Endstadien in der Bildung segmentierter Leukocyten mit spezifischer Körnelung. Aus uns unbekannten Ursachen erreichte diese Granulopoese in einigen Kulturen einen sehr bedeutenden Grad, in anderen war sie sehr wenig ausgeprägt. Die Granulocyten lagerten sich entweder vereinzelt zwischen den übrigen Zellen vom Typus der Klastmatocyten und Fibroblasten; oder aber es kam zur Bildung förmlicher Inselchen, welche fast ausschließlich aus Granulocyten in verschiedenen Reifezuständen bestanden. Besonders oft entstanden solche Inselchen in einiger Entfernung von der Hauptmasse der wachsenden Zellen, zuweilen auf der Oberfläche des Glimmerplättchens, aus hierher gewanderten Myeloblasten. Eines dieser Inselchen ist durch die Abbildung 3 dargestellt, ein anderes ist auf der Abbildung 4 zu sehen.

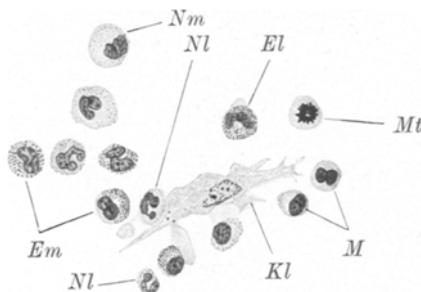


Abb. 3. Eine Granulocytengruppe, die an der Oberfläche des Glimmerplättchens haftete; aus einer 9tägigen Kultur. *M* = Myeloblasten; *Em* = eosinophile Myelocyt; *El* = polymorp-kerniger Eosinophiler; *Nm* = neutrophiler Myelocyt; *Nl* = polymorp-kerniger Neutrophiler; *Mt* = Mitosis des Myeloblasten; *Kl* = Klastmatocyt. Vergr.: Obj. Leitz, hom. Imm.  $\frac{1}{12}$ ", Ok. Leitz 2.

Beide Inselchen sind von einer 9tägigen Kultur genommen. In dieser Kultur beobachtete man im Zentrum eine bedeutende Entwicklung von Fibroblasten mit einer geringen Beimengung von Granulocyten, während die Peripherie eine große Menge von Inselchen enthielt, deren jede aus etwa 20—30 Granulocyten bestand. Bei der genaueren Untersuchung solcher Inselchen stieß man auf die verschiedensten Übergangsformen zwischen lymphoiden Zellen mit basophilem Protoplasma (Abb. 3, *M*) und typischen segmentierten Leukocyten (Abb. 3, *Nl* und *El*). Am häufigsten beobachtete man die Entwicklung von Neutro-

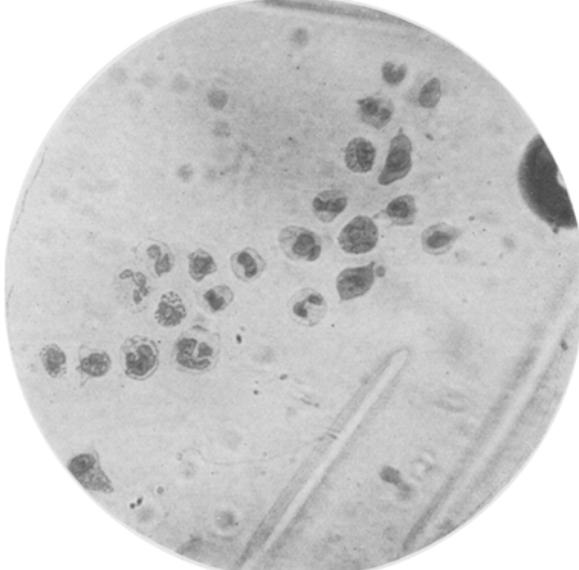


Abb. 4. (Mikroph.) Granulocytengruppe an der Oberfläche des Glimmerplättchens. Zwischen ihnen sieht man polymorphekernige neutrophile Leukocyten mit hellem Protoplasma und segmentiertem Kern, polymorphekernige Eosinophile mit grob gekörntem Protoplasma, eosinophile und neutrophile Myelocyten, und endlich Myeloblastenzellen mit basophilem ungekörntem Protoplasma (auf dem Mikroph. ist es dunkler als in Wirklichkeit) und runden, Kernkörperchen enthaltenden Kernen.

Photographiert ist eine 9tägige Kultur (vgl. Abb. 3). Stark vergr.

philen (Abb. 3, *Nm* und *Nl*), ziemlich oft waren Eosinophile vorhanden (Abb. 3, *Em* und *El*), Basophile aber fanden sich sehr selten vor.

Die Granulopoese geht *in vitro* im Allgemeinen ebenso vor sich, wie *in vivo*: Die Basophilie des Protoplasmas wird bei den Myeloblasten allmählich geringer, und es beginnt dafür diese oder jene spezifische Körnelung sich zu entwickeln. Oft entsteht die Körnelung nur an einer Seite der Zelle, der andere Teil des Protoplasmas bleibt basophil und ungekörnt. So ist zuweilen, trotz des Reifens und der Segmentierung des Kernes wenig Körnelung vorhanden, und dieselbe häuft sich an einer Stelle im Protoplasma an. Bei Eosinophilen und Neutrophilen

ist die sich entwickelnde Körnelung in den verschiedenen Zellen ungleich groß. Einige segmentierte Leukocyten kommen in ihren Ausmaßen den Myeloblasten gleich. Teilungsfiguren bei Zellen, die sich im Zustande der Granulopoese befanden, haben wir überaus selten beobachtet. Öfter zeigten sich Mitosen an Myeloblasten (Abb. 3, *Mt*).

In diesen Versuchen ist von uns zum ersten Male eine deutliche Granulopoese *in vitro* erhalten worden. Anderen Autoren, die mit Kulturen weißer Blutkörperchen *in vitro* arbeiteten, ist dies nicht gelungen. Eine geringe Granulopoese beobachteten Maximow<sup>11)</sup> in Kulturen der Lymphdrüse und die Chlopins<sup>12)</sup> in Kulturen der blutbildenden Organe des Axolotls.

In unseren Kulturen beobachteten wir stets in größerer oder kleinerer Menge winzige amöboide Zellen mit rundem, sich scharf färbendem Kern, und einem schmalen, schwer zu erkennenden Protoplasmasaum. Diese Zellen müssen ihrer Morphologie nach zu den kleinen Lymphocyten gerechnet werden. Die kleinen Lymphocyten liegen größtenteils isoliert zwischen den übrigen Zellen, zuweilen aber sieht man sie in bedeutender Anzahl zu einzelnen Häufchen zusammengeballt, welche, wie es das Studium einer Schnittserie ergibt, aus einigen Hunderten dieser Zellen bestehen (Abb. 5, *L*).

Zwischen kleinen Lymphocyten sind in solchen Häufchen größere lymphoide Zellen und mittelgroße Zellen zu finden (Abb. 5, *Gl*).

Es wäre überaus wichtig, die Herkunft der kleinen Lymphocyten in unseren Kulturen aufzuklären. Da im ausgepflanzten Material bis zu 3% kleiner Lymphocyten vorhanden waren, so wäre es natürlich, anzunehmen, daß durch Teilung derselben die Anreicherung der Kulturen an kleinen Lymphocyten zustande käme. Dennoch ist hier eine andere Herkunft für die Lymphocyten wahrscheinlicher, und zwar aus den Myeloblasten. Teilungsfiguren der Myeloblasten finden sich oft in den Kulturen, während solche der kleinen Lymphocyten unsererseits nicht beobachtet wurden. Weiterhin muß man in Betracht ziehen, daß in Kulturen weißer Blutkörperchen des Normalblutes die Lymphocyten in den ersten 2—3 Tagen *in vitro* sich fast sämtlich zu Zellen vom Typus

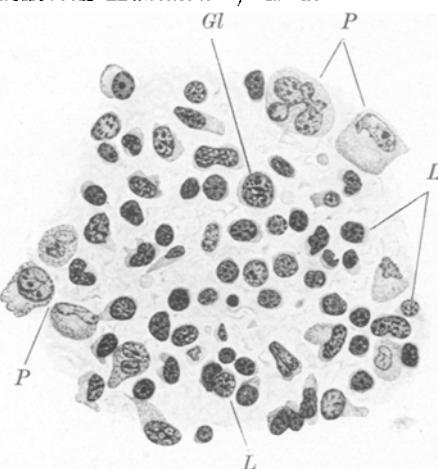


Abb. 5. Schnitt aus einer 3 tägigen Kultur. Ansammlung kleiner Lymphocyten. *L* = kleine Lymphocyten; *Gl* = eine große lymphoide Zelle; *P* = Po-lyblasten. Vergr.: Obj. Reichert, hom. Imm.  $\frac{1}{12}$ ”, Ok. Zeiss 4 compens.

der Polyblasten entwickeln, ein Teil der Myeloblasten aber *in vitro* unbegrenzt lange seinen Anfangscharakter beibehält. Und eben aus diesen Myeloblasten scheinen durch Teilung die kleinen Lymphocyten zu entstehen. Die Frage ist damit aber nicht für endgültig gelöst zu halten. Ein Einwand wäre z. B., daß wir es hier gar nicht mit kleinen Lymphocyten, sondern mit Mikromyeloblasten zu tun haben, welche in Schnitten von kleinen Lymphocyten morphologisch nicht zu unterscheiden sind.

Die Entwicklung von Polyblasten aus Myeloblasten, welche in unseren Kulturen in bedeutender Menge beobachtet wurde (Abb. 5, 6, 10, 14, *P*), zeigt keinen Unterschied gegen den entsprechenden Vorgang in Kulturen ungekörnter Leukocyten des Normalbluts, wie er von einem unserer Mitarbeiter zusammen mit *Auroroff* und späterhin von anderen Untersuchern beschrieben wurde (*M. und W. Lewis, Maximow*). Diese Entwicklung geht überaus schnell vor sich: Schon in 6stündigen Kulturen nehmen einige Myeloblasten den Charakter der Polyblasten an. Die Menge des Protoplasmas wächst, der oft bohnenförmige Kern liegt gewöhnlich etwas exzentrisch, im Protoplasma können phagocytierte Einschließungen vorkommen, z. B. Erythrocyten, zerfallene Leukozyten und in Kulturen, welche mit Tuberkelbazillen infiziert sind, wird schon zu dieser Zeit eine deutliche Phagocytose derselben wahrgenommen.

Im allgemeinen stehen die Myeloblasten hinsichtlich ihrer raschen Umwandlung in phagocytierende Polyblasten den Monocyten des Normalblutes am nächsten, übertreffen darin bedeutend die kleinen Lymphocyten, welche eine längere Zeit beanspruchen, um sich zu Polyblasten zu entwickeln.

Nach 2—3 Tagen beobachtet man eine bedeutende Hypertrophie der Polyblasten, welche sowohl den Kern als auch das Protoplasma betrifft. Dazu gesellt sich häufig eine Ansammlung von Fetttröpfchen in der Zelle und eine starke Entwicklung der Attraktionssphäre. In einigen Kulturen dienten die meisten Myeloblasten der Entstehung solcher großer Polyblasten (Abb. 6, *P* und *P<sub>1</sub>*).

Besonders wird diese Umwandlung in der Umgebung zufällig in die Kultur geratener Fremdkörper, in der Nähe zerfallender Zellen und in mit Tuberkelbazillen infizierter Kulturen beobachtet. Die Basophilie des Protoplasmas solcher großer Makrophagen nimmt ab und kann sogar in Oxyphilie übergehen. Sowohl die Form als auch die Struktur des Kernes in solchen Zellen wechseln sehr: Entweder färbt sich der Kern stark und zeigt grobe Chromatinschollen und eine dicke Membran, oder er ist nur konturiert und enthält 1—2 große Kernkörperchen. Viele dieser Zellen nehmen den Charakter typischer epithelioider Zellen an, besitzen also einen protoplasmareichen Zelleib von regelmäßig

runder oder durch gegenseitigen Druck polyädrischer Form, zeigen überaus starke oxyphile, zentral gelegene Attraktionssphäre und einen peripher liegenden rundlichen oder öfter buchtenförmigen Kern. Oft kann man Teilungsfiguren dieser freien Amöbocyten auffinden (Abb. 7, *Mt*).

Einige der Polyblasten strecken sich und versehen sich mit langen, spitz ausgezogenen Fortsätzen, indem sie eine sternartige Form annehmen. So bilden sich ruhende Wanderzellen oder Klasmatocyten (Abb. 3

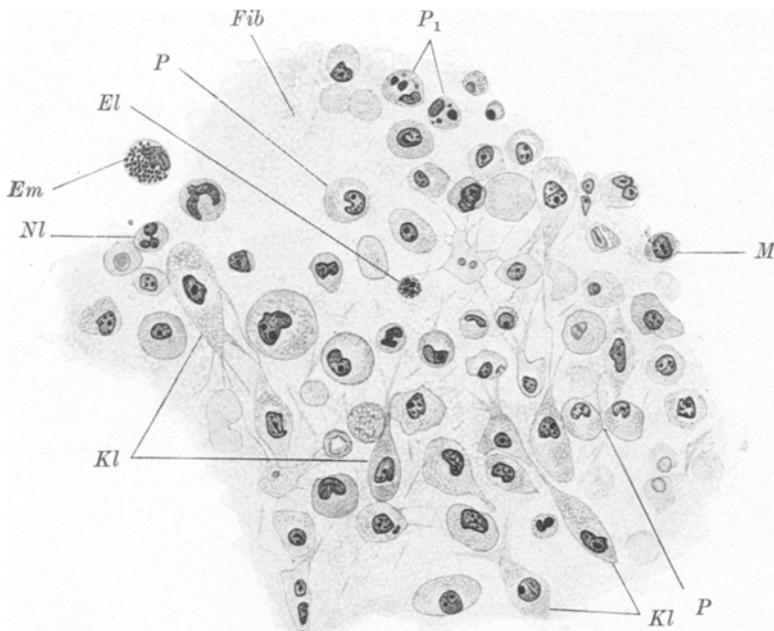


Abb. 6. Schnitt aus einer 10tägigen Kultur. *P* = Polyblasten; *P<sub>1</sub>* = Polyblasten mit Einschlüssen; *M* = Myeloblast; *Em* = eosinophiler Myelocyt; *El* = polymorphkerniger Eosinophiler; *Nl* = polymorphkerniger Neutrophiler; *Kl* = Klasmatocyten; *Fib* = Fibrinnetz. Vergr.: Obj. Reichert, hom. Imm.  $\frac{1}{12}''$ , Ok. Zeiss 4 compens.

und 6, *Kl*). Ihr Protoplasma kann kleinere oder größere Mengen an phagocytierten Teilchen und Pigment enthalten und kann Körnelung aufweisen; oft ist es reich an Fetttröpfchen. Der Kern dieser ruhenden Wanderzellen nimmt oft eine regelmäßig ovale Form an, enthält 1—2 Kernkörperchen und Chromatinschollen, welche sich hauptsächlich an die Peripherie des Kernes anlagern.

In älteren Kulturen, in der 2. bis 3. Lebenswoche, *in vitro* kann man unter den Klasmatocyten Zellen antreffen, die ihrer Morphologie nach völlig den Fibroblasten gleichen. Ihre sehr zart umrissenen Kerne sind blaß und enthalten 1—2 Kernkörperchen. Das mit verzweigten

Fortsäten versehene Protoplasma ist schwach basophil und enthält gar keine Einschließungen mehr. So vollzieht sich ein allmählicher Übergang der ruhenden Wanderzellen in Fibroblasten, eine Erscheinung, die bereits vor mehr als 20 Jahren von *Maximow*<sup>13)</sup> bei einer experimentellen Entzündung am Kaninchen beobachtet und beschrieben wurde. Wie wir weiterhin sehen werden, können sich Fibroblasten in Kulturen von Myeloblasten, auch direkt aus diesen mit Übergehung des Polyblasten- und Klastamatocytenstadiums entwickeln.

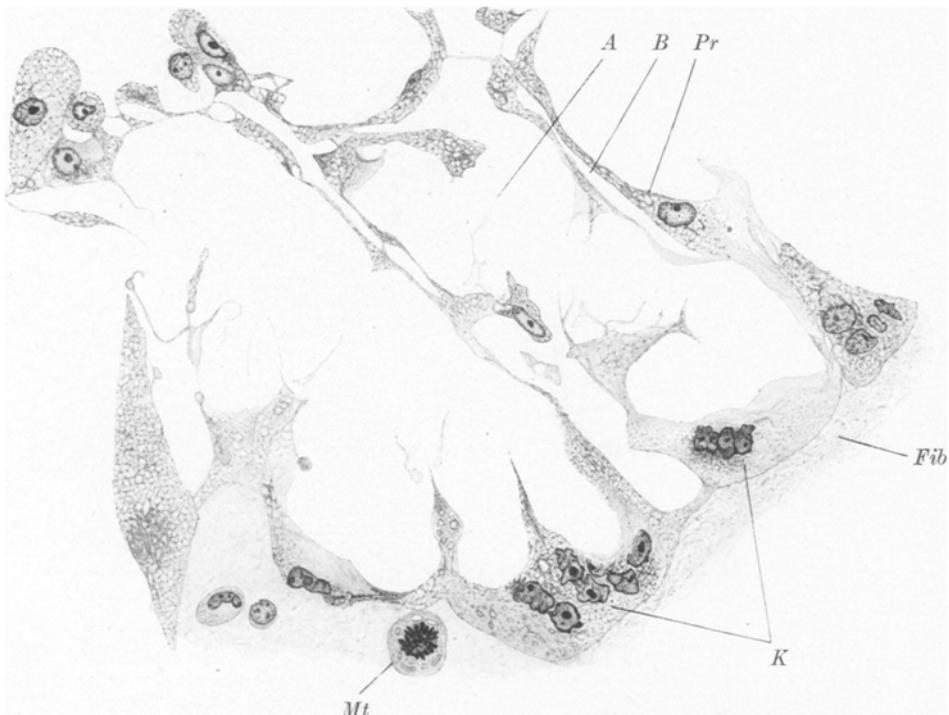


Abb. 7. Schnitt aus einer 10tägigen Kultur. Protoplasmatisches Syncytium, bestehend aus Strängen und Balken, in deren Maschen sich Flüssigkeit befindet. *A* = unregelmäßige Höhlungen mit Flüssigkeit; *B* = enge Kanäle; *K* = Syncytiumkerne, die haufenförmig angeordnet liegen; *Pr* = protoplasmatische Stränge; *Mt* = Mitose eines großen Polyblasten; *Fib* = Fibrinnetz außerhalb des protoplasmatischen Syncytiums. Vergr.: Obj. Reichert hom. Imm.  $1/12''$ , Ok. Zeiss 4 compens.

Ruhende Wanderzellen anastomosieren oft mit ihren Fortsätzen und bilden ein förmliches weitmaschiges Netz (Abb. 6, *Kl*). In den Maschen dieses Netzes liegen große Amöbocyten, Myeloblasten, Myelocytes mit verschiedenartiger Körnelung, segmentierte Leukocyten und einzelne kleine Lymphocyten. Somit entsteht ein Gewebe, welches in der Anordnung der Zellen an das myeloide erinnert. In diesem Gewebe entsprechen die Zellen vom Typus der Klastamatocyten völlig den retikulären Zellen.

Diese Ähnlichkeit mit dem retikulären Gewebe wächst in einigen Fällen noch durch engere innige Verbindung der fixierten Zellen miteinander, infolgedessen ein Syncytium entsteht, welches sich aus protoplasmatischen Strängen und Querbalken mit zerstreuten Kernen zusammensetzt (Abbildung 7).

Gewöhnlich liegen die Kerne an den Stellen, wo am meisten Protoplasma angehäuft ist. Zuweilen liegen an diesen Stellen nicht 1, sondern 2—5 und mehr Kerne (Abb. 7, *K*). Zwischen den protoplasmatischen Strängen und Balken verflüssigt sich das Fibrin oft gänzlich, so daß sich Systeme von Kanälen (Abb. 7, *B*) und Höhlungen (Abb. 7, *A*) bilden, die mit Flüssigkeit gefüllt sind und deren Wandungen aus einer protoplasmatischen Masse bestehen. In diesen Höhlungen sind entweder gar keine oder sehr wenig Zellen vorhanden (Abb. 8 und 9).

Gleichzeitig mit geräumigeren Höhlungen werden auch enge Kanäle mit protoplasmatischen Wandungen beobachtet, die ihrem Aussehen nach den Kapillaren ähneln (Abb. 7, *B*). Außerhalb dieser Höhlungen, von denselben durch eine dichte Protoplasmaschicht mit Kernen getrennt, findet sich ein Fibrinnetz (Abb. 7, *Fib*) mit verschiedenen, in dasselbe eingeschlossenen Zellen. Die Entstehung der Höhlungen und Kanäle muß mit der proteolytischen Tätigkeit der Zellen in Zusammenhang gebracht werden.

Manchmal aber beobachtet man, daß auch die Zellen selbst der Auflösung unterliegen. Bemerkenswert ist, daß die Wandungen der Höhlungen

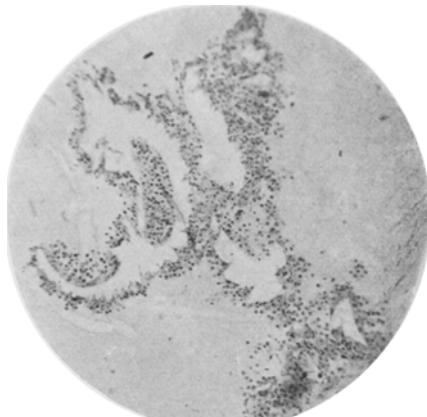


Abb. 8. (Mikroph.) Schnitt aus einer 10tägigen Kultur. Man sieht deutlich Höhlungen von unregelmäßiger Form mit hellem Inhalt, auf allen Seiten von Zellen umgeben. Schw. Vergr.

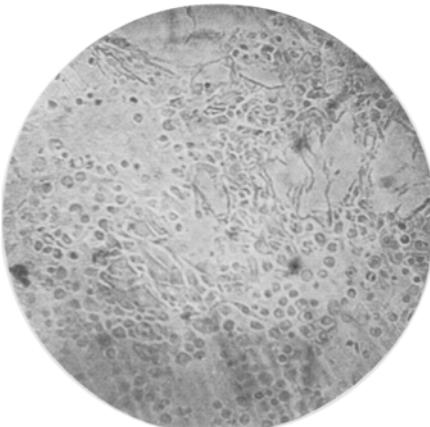


Abb. 9. (Mikroph.) Dasselbe Präparat, wie bei Abb. 8, stärker vergrößert. Eine Stelle seitwärts von den Haupthöhlungen photographiert. Man sieht protoplasmatische Stränge, welche die kleinen Höhlungen mit heller Flüssigkeit durchziehen. Die Höhlungen werden vom protoplasmatischen Syncytium gebildet. Ringsum liegen große Zellen.

in der Regel überall entweder von einer dichten protoplasmatischen Masse oder aber von einzelnen abgeflachten Zellen gekleidet werden, welche ihrem Aussehen nach an Gefäßendothel erinnern (Abb. 10, E).

Solch eine Epithelialisation der Höhlungen und Kanäle beobachtet man besonders in älteren Kulturen nach mehreren Passagen.

Zwischen den beschriebenen Zellsyncytien und echten, vielkernigen Riesenzellen kann man in unseren Kulturen verschiedene Übergangsformen antreffen. Die Bildung der letzteren ist von allen Untersuchern, die sich mit Kulturen von Leukocyten *in vitro* beschäftigten, beschrieben worden (*Auroroff* und *Timofejewsky*, *Margarit* und *Warren Lewis*, *Maximow*). Die Art ihrer Entwicklung wird von verschiedenen Forschern verschieden angenommen. *M.* und *W. Lewis* erklären ihre Entstehung

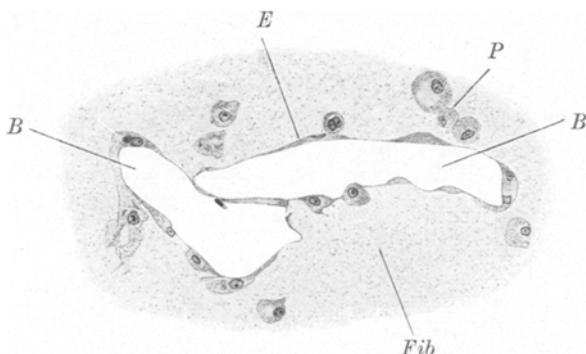


Abb. 10. Schnitt aus einer 15 tägigen Kultur. *B* = Kanäle mit Flüssigkeit; *E* = flache Zellen, die die Wandungen der Kanäle in der Art des Endothels auskleiden; *P* = Polyblasten; *Fib* = Fibrinnetz.  
Vergr.: Obj. Reichert, hom. Imm.  $1/12''$ , Ok. Zeiss 2 compens.

durch Amitose der Kerne. Für *Maximow* ist die Vereinigung einzelner Wanderzellen das Entscheidende.

Im vorliegenden Falle entstanden die Riesenzellen hauptsächlich durch Vereinigung einzelner Polyblasten, sowie ruhender Wanderzellen, was man besonders an der Oberfläche des Glimmerplättchens beobachten konnte (Abb. 11).

Dieser Prozeß kann zur Bildung einer dichten protoplasmatischen Masse führen, die feinkörnig und basophil ist (Abb. 11, *Pr*) und Hunderte von Kernen enthält (Abb. 11, *K*). Die Kerne gruppieren sich um einzelne Zentren, manchmal zu 20—30 (Abb. 11, *Z*). Zuweilen sind in dem dichten protoplasmatischen Syncytium einzelne kleine Höhlungen vorhanden, welche von Zellgruppen eines anderen Charakters eingenommen werden (Abb. 11, *A*). In den peripheren Teilen des Syncytiums sieht man, daß die Grenzen zwischen einzelnen Zellen noch nicht völlig verschwunden sind — der Prozeß des ineinanderfließens ist hier noch nicht völlig beendet (Abb. 11, *Ve*).

Ob für die Entstehung des Syncytiums der Sauerstoffmangel von Bedeutung ist, wie *Barta*<sup>14)</sup> meint, ist schwer zu sagen, doch läßt sich mit Sicherheit feststellen, daß sich dasselbe vielfach in alten Kulturen, am Ende der 2. bis 3. Woche, entwickelt, besonders in Teilen, welche in der Tiefe von der Berührungsfläche mit der Luft entfernt, liegen. Neben den beschriebenen mächtigen Syncytien werden auch einzelne Riesenzellen kleiner Ausmaße beobachtet. Viele derselben enthalten in ihrem Protoplasma verschiedene phagocytierte Einschließungen.

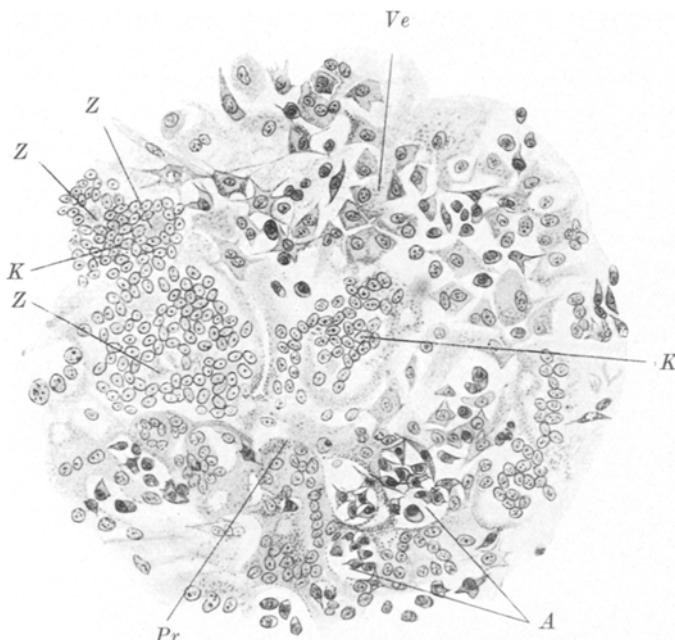


Abb. 11. Totalpräparat aus einer 13-tägigen Kultur. Riesensyncytium mit einer Menge ovaler Kerne. *K* = Syncytienkerne; *Z* = Zentren, um welche sich Kerne gruppieren; *Pr* = gekörntes Protoplasma des Syncytiums; *Ve* = eine Stelle, wo noch nicht völlig Vereinigung der Zellen stattgefunden hat; *A* = Höhlungen im Syncytium, die von freien Zellen eingenommen sind. Vergr.: Obj. apochr. Zeiss, hom. Imm. 3 mm, Ok. Zeiss 2 compens.

Für die Entstehung vielkerniger Zellen kann auch die Teilung der Kerne von Bedeutung sein, dieselbe führt aber nicht zur Bildung von Zellen, die in Größe und Menge ihrer Kerne so auffallend sind, wie im geschilderten Falle. Amitose wird besonders in Kulturen beobachtet, die sich in schlechtem Zustande befinden und verschiedene Degenerationsanzeichen zeigen. Der Kern zerfällt dabei in zwei oft ungleich große Teile. Solch eine Spaltung der Kerne wurde von uns nicht nur an Polyclasten, sondern auch an Fibroblasten beobachtet.

Viele Kulturen wiesen eine reichliche Entwicklung typischer Fibroblasten aus Myeloblasten auf. Wir haben sie zur Genüge verfolgen können.

Zur Fibroblastenentwicklung ist nicht unbedingt eine Hypertrophie der Zellen und eine vorhergehende Umwandlung in Polyblasten notwendig. Schon in den ersten Stunden nach der Explantation fangen einzelne

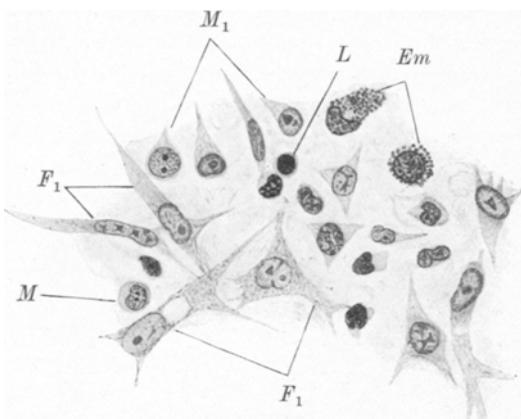


Abb. 12. An der Oberfläche des Glimmerplättchens haftende Zellen aus einer 24 Stunden alten Kultur. Entwicklung von Fibroblasten aus Myeloblasten.  $M$  = Myeloblast;  $M_1$  = ein sich zu strecken anfangender Myeloblast;  $F_1$  = Übergangsformen von Myeloblasten zu Fibroblasten;  $L$  = Lymphocyt;  $Em$  = eosinophile Myelocyten. Vergr.: Obj. Reichert, hom. Imm.  $\frac{1}{12}$ , Ok. Leitz 3.

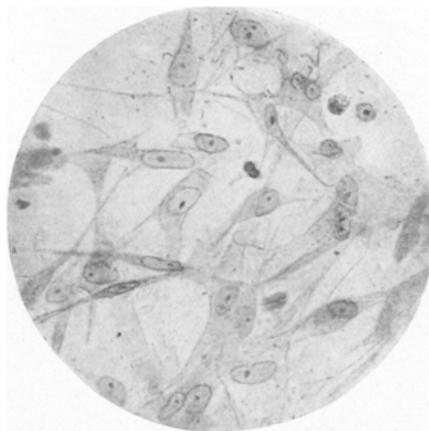


Abb. 13. (Mikroph.) Schnitt aus einer 9tägigen Kultur bei starker Vergrößerung desselben Präparats wie auf Abb. 15. Man sieht fast nur Fibroblasten, zwischen ihnen einzelne Wanderzellen.

Fortsätzen der Nachbarzellen anastomosieren. Oft ist der Zellkörper sehr stark abgeflacht. Die regelmäßig umrissenen Kerne besitzen eine dünne, gleichmäßige Membran und ein oder mehrere große Kernkörperchen,

Zellen an, sich zudehnen, die Kerne nehmen ovale Form an (Abb. 2,  $M_1$ ). In 24 Stunden alten Kulturen tritt die Entwicklung der Fibroblasten noch viel deutlicher hervor (Abb. 12,  $M_1$ ,  $F_1$ ).

Hier kann man am Präparat Stellen auffinden, wo die meisten Zellen die beschriebenen Umwandlungen an Kern und Protoplasma zeigen.

Eine besonders üppige Entwicklung der Fibroblasten beobachteten wir jedoch in noch älteren Kulturen von etwa 10—20 Tagen (Abb. 13 und Abb. 14,  $F$ ).

Hier entwickelte sich in vielen Fällen ein sehr dichtes Gewebe, das aus einer Menge ausgezogener, mit Fortsätzen versehener Zellen bestand, welche alle morphologischen Eigentümlichkeiten der Fibroblasten aufwiesen. Das wurde besonders deutlich an Azur-Eosinpräparaten: Das Zellprotoplasma ist schwach basophil, hat eine unregelmäßig wabenförmige oder faserige Struktur und ist mit zahlreichen, fein ausgezogenen, oft sehr langen Fortsätzen versehen, welche mit ebensolchen

sowie ein staubartiges, gleichmäßig gelagertes Basichromatin. Einige Zellen weisen um den Kern eine sich deutlich abhebende Attraktionsphäre auf, die sich schwach oxyphil färbt.

Neben solchen Zellen, mit ihnen in unmittelbarer Verbindung bleibend, kommen andere vor, welche sich von den ersten durch die tiefere Kernfärbung unterscheiden, hervorgerufen durch schollig gelagertes Basichromatin, besonders am Rande der Kernmembran. Diese Zellen stehen in ihrer ganzen Struktur den Klastmatocyten schon sehr nahe. Im allgemeinen ist es sogar unmöglich, eine scharfe Grenze zwischen

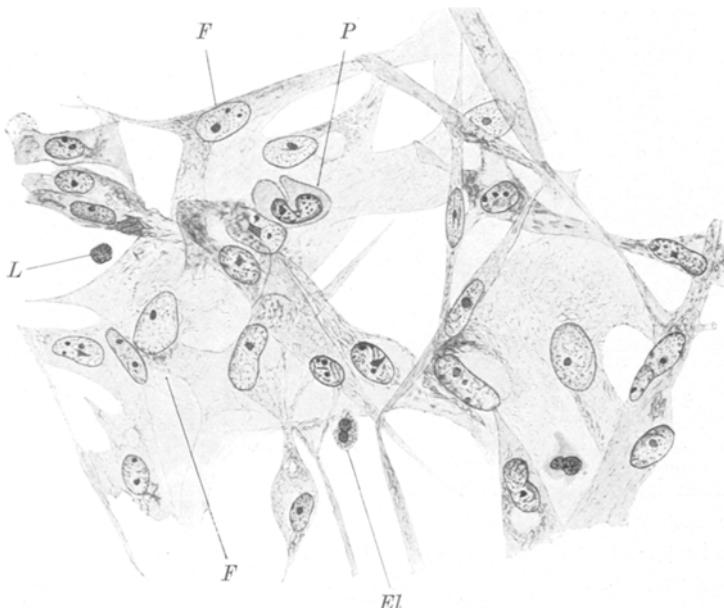


Abb. 14. Gewebe aus Fibroblasten an der Oberfläche des Glimmerplättchens in einer 9-tägigen Kultur.  
*F* = Fibroblasten; *P* = Polyblast; *L* = Lymphocyt; *El* = polymorphkerniger Eosinophiler. Vergr.:  
 Obj. Reichert, hom. Imm.  $1/12''$ , Ok. Zeiss 4 compens.

beiden Zellarten zu ziehen, da zwischen ihnen alle nur möglichen Übergangsformen vorhanden sind.

Die Lagerung der Fibroblasten in Kulturen hat einen herdförmigen Charakter: In ein und derselben Kultur kann man mehrere solcher Herde finden. Ein jeder besteht aus einem dichten Fibroblastengeflecht, das radiär angeordnet ist, wodurch ein rasenartiger Wuchs der Zellen erreicht wird, wie er für Bindegewebekulturen charakteristisch ist (Abb. 15).

Im allgemeinen fällt an solchen Präparaten die ausgesprochene Ähnlichkeit der Bilder mit jenen auf, welche man beim Kultivieren gewöhnlichen Bindegewebes beobachtet.

Diese von uns gemachten Beobachtungen stimmen mit den Ergebnissen der Experimente von *Chlopins* vollständig überein. Letztere explantierten Stückchen von blutbildenden Organen niederer Wirbeltiere, wie Fisch und Axolotl<sup>12)</sup> und beobachteten in ihren Kulturen denselben doppelten Entstehungsursprung der Fibroblasten: Aus Histiocyten und aus großen Lymphocyten. Die Entwicklung von Fibroblasten in Kulturen ungekörnter Hühnerleukocyten *in vitro* ist von *Carrel* und *Ebeling*<sup>6, 15)</sup> beschrieben worden. In unseren Experimenten mit Kulturen normaler weißer Blutkörperchen von Tieren beobachteten wir gleichfalls die Entwicklung von Zellformen aus ungekörnten Leukocyten, welche ihrer Morphologie nach den Fibroblasten überaus nahestanden. Aber eine so schnelle, reichliche und charakteristische

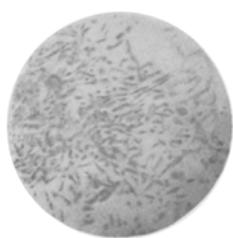


Abb. 15. (Mikroph.) Schnitt aus einer 9tägigen Kultur bei schwacher Vergrößerung. Ein Teil eines Herdes mit Fibroblasten. Es ist der rasenartige Wuchs der letzteren zu sehen.

Fibroblastenentwicklung haben wir in jenen Versuchen niemals beobachten können. Andere Autoren, die sich mit Kulturen weißer Blutkörperchen *in vitro* beschäftigten, wie *M. und W. Lewis*<sup>7)</sup>, beschreiben nur eine Entwicklung von Klasmatocyten aus ungekörnten Leukocyten, nicht eine solche von Fibroblasten. *Maximow*<sup>8, 9)</sup> schildert in seinen unlängst erschienenen Arbeiten über die Kultur weißer Kaninchenblutkörperchen die Entwicklung von Zellen aus Polyblasten, die den Fibroblasten gleich sind.

Übrigens wurde unsererseits die Entwicklung der Fibroblasten aus Myeloblasten nicht in allen

Kulturen beobachtet. Während in einigen Kulturen die Hauptmenge der Zellen aus Fibroblasten bestand, waren dieselben in anderen Kulturen in geringer Zahl vorhanden oder fehlten ganz.

Von anderen Zellformen in unseren Kulturen seien noch die Plasmazellen erwähnt, welche in unbedeutender Menge gewöhnlich zwischen Polyblasten liegen. Ihrer Morphologie nach unterscheiden sie sich in nichts von Plasmazellen, die sich im Bindegewebe des Körpers finden.

#### 4. Erörterungen über die erhaltenen Ergebnisse.

Indem wir in die Besprechung der erhaltenen Ergebnisse eingehen, müssen wir vor allem darauf hinweisen, daß unser Pflanzmaterial hauptsächlich aus den typischen Myeloblasten der Dualisten bestand und von einer leukämischen Kranken entnommen war. Dieses ist um so mehr zu betonen, als sich die dualistische Lehre der Hämatologie hauptsächlich auf klinische Beobachtungen, besonders auf die sogenannten Systemserkrankungen der blutbildenden Organe, d. h. die Leukosen, stützt.

Der Myeloblast des Leukämikers offenbart unter den Verhältnissen der Explantation eine wunderbare Fähigkeit, sich in verschiedenen Rich-

tungen zu differenzieren und weiter zu entwickeln. Abgesehen davon, daß aus ihm Granulocyten hervorgehen, was ja mit den bisherigen Anschauungen vollständig im Einklang steht, dient der Myeloblast als Ursprung für Zellen vom Typus freier und fixierter Histiocytens (Polyblasten, Makrophagen, epithelioide Zellen, ruhende Wanderzellen oder Klastmatocyten, Zellsyncytium, das dem retikulären Gewebe gleicht und auch vielkernige Riesenzellen.)

Das *in vitro* sich aus Myeloblasten entwickelnde Gewebe hat in einigen Fällen Ähnlichkeit mit der organoiden Struktur, indem es an myeloides Gewebe erinnert; die sich durch Verflüssigung des Fibrins bildenden Kanäle und Höhlungen werden häufig von abgeflachten Zellen, in der Art des Gefäßendothels ausgekleidet. Eine besonders wunderbare Eigenschaft des Myeloblasten aber ist seine Fähigkeit, schon in den ersten Tagen nach der Explantation sich zum regelrechten Fibroblasten zu entwickeln mit allen morphologischen Eigentümlichkeiten und dem charakteristischen rasenartigen Wuchs.

Wenn der Myeloblast unter Explantationsverhältnissen so leicht die Rolle als Mutterzelle für diese vielartigen Zellformen übernimmt, so wäre es ganz natürlich anzunehmen, daß sich aus demselben unter entsprechenden Verhältnissen auch alle anderen Formenbestandteile des Bluts entwickeln könnten, d. h. Lymphocyten, Monocyten, Erythrocyten und auch Granulocyten. Was die Lymphocyten betrifft, so hat diese für die ganze dualistische Lehre entscheidende Frage in unserem Versuch keine endgültige Antwort erfahren, dennoch halten wir es für sehr wahrscheinlich, daß die kleinen lymphoiden Zellen, welche zuweilen in unseren Kulturen in bedeutender Menge vorkamen, typische kleine Lymphocyten sind, die aus Myeloblasten, nicht aber aus Lymphocyten des Pflanzmaterials entstanden.

Was die Frage über die Entwicklung der Monocyten aus Myeloblasten anbetrifft, so besteht hier die Hauptschwierigkeit in der Erkennung dieser Zellen. An unseren Präparaten konnten wir stets unter den amöboiden Zellen vom Polyblastentypus neben größeren Formen auch kleinere finden, die allen ihren morphologischen Eigentümlichkeiten nach den Blutmonocyten entsprachen. Sie können entweder unmittelbar aus Myeloblasten oder aus großen Zellen vom Polyblastentypus durch Teilung entstehen. Es ist ganz unmöglich, irgendeine deutliche Grenze zwischen all diesen Formen zu ziehen. Im allgemeinen ist dieser Zelltypus nur in gefärbten Bluttrockenpräparaten leicht zu erkennen, während es an Schnitten unmöglich ist, ihn von verwandten Zellformen zu unterscheiden.

Eine Entwicklung von Erythroblasten konnten wir in unseren Kulturen nicht beobachten, jedoch kann das kaum als Beweis dafür dienen, daß der Myeloblast nicht imstande wäre, als Ursprung für Erythroblasten

zu dienen. Die Züchtung dieser Zellform gelingt gewöhnlich nicht; offenbar sind diese hoch-differenzierten Zellen im allgemeinen für die geänderten Daseinsverhältnisse überaus empfindlich. So gehen sie z. B. in Kulturen des roten Knochenmarks bald zugrunde und zerfallen. Nur bei niederen Wirbeltieren beobachteten die *Chlopins*<sup>12)</sup> eine Entwicklung von Erythroblasten aus retikulären Zellen und ihre Mitose.

Um von einer Spezifität des Myeloblasten, als eines gesonderten Zelltypus reden zu können, muß bewiesen werden, daß seine Entwicklungsfähigkeiten sich von solchen anderer ungekörnter Blutleukocyten, d. h. Lymphocyten und Monocyten, unterscheiden. Daher ist es von Wichtigkeit, die Kulturen ungekörnter Leukocyten des Normalblutes mit Myeloblastenkulturen zu vergleichen. In den Versuchen eines unserer Mitarbeiter zusammen mit *Auroroff*<sup>4)</sup> beobachteten wir die Entwicklung der Polyblasten, vielkerniger Riesenzellen und Zellen vom Typus der Klastamatocyten aus Monocyten und Lymphocyten des Bluts von Kaninchen und einigen anderen Tieren. Im allgemeinen sind auch andere Forscher zu diesem Ergebnis gekommen, die Kulturen ungekörnter Leukocyten des Normalbluts ausführten, wie *Carrel, Ebeling, M. und W. Lewis, Maximow*. In dieser Hinsicht ist also kein wesentlicher Unterschied zwischen Myeloblasten und ungekörnten Leukocyten des Normalbluts vorhanden. Man kann nur sagen, daß die Entwicklung der Fibroblasten aus Myeloblasten reichlicher und schneller vor sich geht als aus ungekörnten weißen Blutzellen des Normalbluts, dieser Unterschied ist aber nicht wesentlich.

Viel wichtiger ist der andere Unterschied zwischen den prospektiven Potenzen beider Zellformen, nämlich der, welcher die Granulopoese betrifft. Der Myeloblast hat, wie wir schon sahen, die Eigenschaft, sich bei der Auspflanzung zu Granulocyten zu entwickeln. Dagegen hat keiner der Forscher, die mit Kulturen ungekörnter Leukocyten des Normalblutes arbeiteten, diese Erscheinung beobachtet. Zum vollen Triumph der Unitarienlehre fehlt noch ein wesentlicher Nachweis, daß nämlich auch die ungekörnten weißen Blutzellen des Normalbluts in Explantationsverhältnissen zur Granulopoese imstande sind. Die Myeloblasten unterscheiden sich in dieser Hinsicht zweifellos von Lymphocyten. Um nun aber in den Lymphocyten die Fähigkeit zur Granulopoese zu verwirklichen, sind offenbar irgendwelche besonderen Bedingungen erforderlich, die in Explantationsversuchen nicht gegeben sind. Diese Verhältnisse zu klären und in vitro die Granulopoese zu erreichen, wäre von ganz besonderem Wert.

Der hervorragendste Dualist unserer Zeit, *Naegeli*, hat mit der Einführung des Myeloblastenbegriffs, demselben eine bestimmte Bedeutung erteilt. Der Myeloblast ist nach *Naegeli* eine für das myeloide Gewebe spezifische Zelle, die die Fähigkeit besitzt, sich zu Granulocyten, Mono-

cyten und Megakaryocyten zu entwickeln. Diese Lehre *Naegelis* wird durch Auspflanzungsversuche nicht bekräftigt. Die prospektiven Potenzen des Myeloblasten sind viel umfangreicher als die Dualisten annahmen. Der Myeloblast — eine indifferente Zelle — ist fähig, sich in den verschiedensten Richtungen zu entwickeln. Daher ist auch die Benennung „Myeloblast“ irreführend, da sich aus dieser Zelle außer den Zellformen des myeloiden Gewebes auch die vom Typus freier und fixierter Histiocytentypen, Fibroblasten und, augenscheinlich, auch Lymphocyten entwickeln können.

Nach der Lehre der Unitarier ist der Myeloblast seinen prospektiven Potenzen nach dem Lymphocyten gleichzustellen. Wie wir es sahen, erlauben uns die Ergebnisse der Gewebsauspflanzung noch nicht, von einer völligen Gleichheit des Myeloblasten und Lymphocyten zu reden. *Maximow*<sup>16)</sup> hebt als Stammzelle der Formenbestandteile des Bluts den großen Lymphocyten oder Hämocytoblasten hervor, welchen er nicht vom Myeloblasten absondert. Dieser Hämocytoblast hat die Fähigkeit, sich zu Granulocyten, Erythrocyten und Megakaryocyten zu differenzieren. Aus ihm können nach *Maximow* auch kleine Lymphocyten und Histiocytentypen entstehen, während er die Monocyten unmittelbar von Histiocytentypen ableitet. Aus dem Hämocytoblasten können sich über das Stadium des Polyblasten auch Fibroblasten entwickeln. Im allgemeinen entspricht in unseren Versuchen der Myeloblast seinen prospektiven Potenzen nach *Maximows* Hämocytoblasten oder großen Lymphocyten. In der Tat, ist er wie dieser imstande, sich *in vitro* zu differenzierten Zellen, also Granulocyten, Zellen vom Typus freier und fixierter Histiocytentypen, Fibroblasten und augenscheinlich auch zu kleinen Lymphocyten zu entwickeln. Das Fehlen der Erythropoese und der Entwicklung von Megakaryocyten ist unserer Meinung nach nur durch die besonderen Bedingungen des Versuchs verursacht.

Der Begriff des Hämocytoblasten oder großen Lymphocyten *Maximows* schließt außer dem Myeloblasten der Dualisten noch ihren großen Lymphocyten oder Lymphoblasten ein. Zur Aufklärung der prospektiven Potenzen des Lymphoblasten der Dualisten wäre es lehrreich, die Explantation weißer Blutkörperchen von lymphatisch-leukämischen Kranken auszuführen, besonders bei der akuten Form, bei welcher im Blut vorwiegend diese Zellen vorhanden sind.

Einen solchen Versuch haben wir ausgeführt<sup>5)</sup>. Es wurde Blut eines chronisch-lymphatisch-leukämischen Kranken kultiviert, bei welchem die kleinen Lymphocyten 99% aller weißen Blutkörperchen ausmachten, an großen Lymphocyten waren nur  $\frac{1}{2}\%$  vorhanden. Granulopoese wurde aber nicht erreicht.

#### *Schlußfolgerungen.*

1. Der Myeloblast der Dualisten ist eine indifferente Zelle, die sich *in vitro* zu folgenden Formen zu entwickeln fähig ist:

- a) Granulocyten,
- b) Zellen vom Typus freier und fixierter Histiocyten,
- c) Fibroblasten,
- d) wahrscheinlich auch kleinen Lymphocyten.

2. Der Hauptunterschied zwischen dem Lymphocyt und dem Myeloblasten in Explantationsversuchen besteht darin, daß der Myeloblast sich leicht zu Granulocyten entwickelt, während dieses für Lymphocyten des Normalbluts bisher nicht bewiesen werden konnte.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1)</sup> Naegeli, O., Dtsch. med. Wochenschr. 1900. — <sup>2)</sup> Naegeli, O., Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 1923. — <sup>3)</sup> Awroroff, P., und A. Timofejewsky, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **216**. 1914. — <sup>4)</sup> Awroroff, P., und A. Timofejewsky, Russky Wratsch 1915, S. 553. — <sup>5)</sup> Timofejewsky, A., und S. Benewolenskaja, Sibirskoje medizinskoje Obosrenije 1918, Nr. 1—2. — <sup>6)</sup> Carrel, A., and H. Ebeling, Journ. of exp. med. **36**. 1922. — <sup>7)</sup> Lewis, M., and W. Lewis, Journ. of the Americ. med. assoc. **84**. 1925. — <sup>8)</sup> Maximow, A., Klin. Wochenschr. **4**. 1925. — <sup>9)</sup> Maximow, A., Journ. of infect. dis. **37**. 1925. — <sup>10)</sup> Klein, S., Die Myelogonie. Berlin. Springer. 1914. — <sup>11)</sup> Maximow, A., Arch. f. mikroskop. Anat. **96**. 1922; **97**. 1923. — <sup>12)</sup> Chlopin, N., und A. Chlopin, Arch. f. exp. Zellforsch. **1**. 1925. — <sup>13)</sup> Maximow, A., Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol., Suppl. **5**. 1902. — <sup>14)</sup> Barta, E., Arch. f. exp. Zellforsch. **2**. 1925. — <sup>15)</sup> Carrel, A., Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **89**, 972. 1923. — <sup>16)</sup> Maximow, A., Physiol. review **4**. 1924.