

(Aus der Pathologisch-Anatomischen Abteilung des Staatlichen Forschungs-instituts für Mutterschafts- und Säuglingsschutz in Moskau. — Direktor des Instituts: Prof. G. N. Speranski; Leiter der Abteilung: Priv.-Doz. N. M. Nikolajew.)

Studien über Benzolwirkung auf den tierischen Organismus.

Von

Priv.-Doz. N. M. Nikolajew und Dr. L. A. Schparo.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. August 1928.)

Im allgemeinen kann man die Wirkung des Benzols auf den Organismus nach dem betreffenden Schrifttum folgenderweise zusammenfassen: 1. Benzol schädigt die Leukocyten schon im peripheren Blute, 2. die geringste Widerstandsfähigkeit dem Benzol gegenüber besitzen die Granulocyten und dabei vor allem ihre sogenannten jungen Formen, 3. Benzol verursacht hämorrhagische Erscheinungen in den Geweben, 4. bei unvorsichtiger Benzolanwendung kann man degenerative Veränderungen in den parenchymatösen Organen beobachten. Es muß darauf hingewiesen werden, daß eine Einsicht in den Mechanismus der Ausbildung der Benzolleukopenien nicht nur eine praktische, sondern auch eine wichtige theoretische Bedeutung besitzt.

Von *Lippmann* und *Plesch* wurde Benzol in die experimentelle Methodik eingeführt, um die Frage der Herkunft der Entzündungszellen zu erforschen; weiter ist die durch Benzol verursachte Leukopenie sehr ähnlich der Leukopenie, die gegenwärtig von manchen Forschern als „Agranulocytose“ beschrieben wird (*Schulz*, *Versé*, *Friedemann*, *Rotter*, *Schäfer*). Tatsächlich verläuft die agranulocytotische Angina mit Blutungen, Nekrosen und starker Verminderung der Leukocytenzahl (bis 800 in 1 cmm), während die relative Zahl der Lymphocyten in diesen Fällen bis zu 90% steigen kann.

Westphal, *Sklawunos* u. a., die bei durch Benzol leukocytenarm gemachten Tieren eine Entzündung erzeugten, fanden bei ihnen kein leukocytenhaltiges Exsudat und hielten dies für eine Stütze der *Conheim*schen Auswanderungslehre; diese Beobachtung kann, wie es scheint, als wichtige Erwiderung den Forschern gegenüber gelten, welche bei der Bildung der Exsudatzellen den Gewebszellen eine große Bedeutung beilegen (*Herzog*, *Siegmund* u. a.).

Die über die Wirkung des Benzols auf das blutbildende Gewebe von manchen Verfassern vertretene Ansicht muß jedoch in Zweifel gezogen werden. Es ist schwer, sich vorzustellen, daß irgendein in die Blutbahn gelangtes Gift auf die zu ein und demselben System (Mesenchym) gehörigen Zellen elektiv verschieden wirken sollte. Warum schädigt Benzol zuerst die Granulocyten und erst später die Lymphocyten? Warum verändert sich das rote Blutbild weniger als das weiße?

Eine von Dr. *Schustrow* geäußerte Ansicht, daß Benzol die lipoide Membran der Zellen auflöst und deshalb mehr die roten Blutzellen schädigt, wenn es unter die Haut gespritzt wird, und die Leukocyten, wenn man Benzol per os verabfolgt, ist unserer Meinung nach für das wahre Verständnis geeigneter als die Ansichten der anderen Verfasser.

Da die Leukocytenverarmung der Tiere in den Tierversuchen für die Entscheidung der Fragen, die mit Infektionen und Blutbildung verbunden sind, eine bedeutende Rolle spielt, schien es uns wichtig, den Mechanismus der Benzolvergiftung nochmals zu untersuchen. Wir haben eine etwas veränderte Versuchsmethodik angewandt als die Mehrzahl der Verfasser, die durch große Benzolgaben (nach *Selling* 1,0, nach *Pappenheim* 1,5 auf 1 kg des Gewichts der Tiere) im Verlaufe von 5 bis 8 Tagen eine erhebliche Leukopenie (bis 100 Leukocyten in 1 emm) erzielten. Im Gegensatz dazu haben wir eine Reihe von Versuchen an Meerschweinchen und Kaninchen mit verschiedenen Benzolgaben angestellt, so daß einige Tiere die Vergiftung mehr als einen Monat ertrugen; weiter untersuchten wir systematisch das periphere Blut der Tiere; nach dem Tode außerdem histologisch fast sämtliche Organe.

Benzol wurde unter die Haut mit Olivenöl, Mandelöl oder Vaseline und in einigen Versuchen mit einer Emulsion aus ausgewaschenen Hammelblutkörperchen eingeführt. Außerdem haben wir bei mehreren Tieren, nach Erreichung einer bestimmten Verminderung der Leukocytenzahl, noch weitere Maßnahmen folgen lassen, so z. B. Einspritzungen von normalem Pferdeserum und von kolloidalen Farbstofflösungen; endlich wurden noch 2 entmilzte Kaninchen mit Benzol behandelt. Im ganzen haben wir 15 Meerschweinchen und 9 Kaninchen benutzt.

*Meerschweinchen Nr. 1*¹, Gewicht 550,0 g, bekam Benzol 6 Tage lang in Gaben von 0,3; 0,6; 0,8; 1,0; 1,4; 1,6; 1,8. Tod am 7. Tage. Gewicht 500 g. Blutbild: Leukozyten von 14000 bis auf 9000 gestürzt; Leukocytenformel vor dem Versuche: 88% Lympho- und Histiocyten², 10% n-Granulocyten und 2% Eosinophile; allmählich sank unter Schwankungen die Zahl der Lymphocyten und entsprechend stieg die Zahl der Granulocyten; am 6. Tage: Lympho- und Histiocyten 70%, Granulocyten 30%.

¹ Die Zahlen sind auf reines Benzol reduziert.

² Wir bezeichnen als Histiocyten einkernige, den großen Lymphocyten ähnliche Zellen mit durchsichtigem, oft azurophil granulierte Protoplasma.

Meerschweinchen Nr. 4¹. Gewicht 750,0 g. Benzol 19 Tage lang zu 0,6; 1,2; 1,4 usw. bis zu 4,0. Am 20. Tage getötet. Gewicht 500,0 g. Vor dem Versuche: Leukocyten 10000; Lympho- und Histiocyten 60%; n-Granulocyten 30%; Eosinophile 8%; Basophile 2%; am 19. Tage: Leukocyten 11000, Lympho- und Histiocyten 45%; n-Granulocyten 45%; Eosinophile 0%; Basophile 10%.

Meerschweinchen Nr. 6, Gewicht 750,0 g, bekam in Hammelblutkörperchen-emulsion gelöstes Benzol im Verlaufe von 7 Tagen zu je 0,8—1,5 einer Mischung, in der das Benzol etwa 20% ausmachte. Tod am 7. Tage 2 Minuten nach der Einspritzung unter den Erscheinungen eines anaphylaktischen Shocks. Blutbild vor dem Versuche: Hämoglobin 95%, Erythrocyten 6000000; Leukocyten 12000; Lympho- und Histiocyten 70%; n-Granulocyten 10%; Eosinophile 10%. Vor der letzten Einspritzung: Hämoglobin 96%, Erythrocyten 6000000, Leukocyten 14000, Lympho- und Histiocyten 45%, n-Granulocyten 35%, Eosinophile 20%.

Meerschweinchen Nr. 10, mit einem Gewicht von 750,0 g, bekam Benzol 24 Tage lang täglich zu je 0,4 g. Das Blut vor dem Versuche: Hämoglobin 85%, Erythrocyten 6800000, Leukocyten 11000, Lympho- und Histiocyten 71%, n-Granulocyten 23%, Eosinophile 6%. Am 20. Tage: Hämoglobin 102%, Erythrocyten 7000000, Leukocyten 23000, Lympho- und Histiocyten 58%, n-Granulocyten 36%, Eosinophile 9%. Gewicht 730,0 g. Das Meerschweinchen blieb scheinbar gesund und die weitere Benzoleinspritzung wurde eingestellt.

Kaninchen Nr. 1 (weiblich), mit einem Gewicht von 1500,0 g, bekam 5 Tage lang Benzol (0,2—2,2), am 6. Tage Entbindung, am 8. Tage Tod nach spontaner Infektion. Blut vor dem Versuche: Leukocyten 8000, Lympho- und Histiocyten 47%, Granulocyten 53%; am 5. Tage: Leukocyten 2000, Lympho- und Histiocyten 26%, Granulocyten 74%.

Kaninchen Nr. 2, 1520,0 g schwer, bekam Benzol 31 Tage lang durch den After zu je 0,1—1,8, dann 5 Tage lang vom Maul aus zu je 1,8 und 5 Tage lang unter die Haut in Mengen von 0,5; 0,5; 3,0; 3,0; 3,0 mit gleichzeitigen Einspritzungen von normalem Pferdeserum unter die Haut zu je 2,0 täglich in den letzten 5 Tagen. 41 Tage nach Versuchsbeginn getötet. Blut: Leukocyten 11000, Lympho- und Histiocyten 75%, Granulocyten 25%. Am 32. Tage: Leukocyten 13000, Lympho- und Histiocyten 45%, Granulocyten 55%; am 41. Tage: Leukocyten 1000, Lympho- und Histiocyten 70%, Granulocyten 30%. Gewicht 1200,0 g.

Kaninchen Nr. 3, 3750,0 g schwer, bekam Benzol 11 Tage zu je 3,5—7,0. Blut vor dem Versuch: Hämoglobin 75%, Erythrocyten 5000000, Leukocyten 12000, Lympho- und Histiocyten 78%, Granulocyten 22%. Am 11. Tage: Hämoglobin 68%, Erythrocyten 4500000, Leukocyten 1000, Lympho- und Histiocyten 95%, Granulocyten 5%. Am 11. Tage getötet. Gewicht 3700,0 g.

Kaninchen Nr. 4, 1700,0 g schwer, bekam Benzol 11 Tage lang zu je 0,75 bis 4,2. Am 12. Tage 1620,0 g. Tötung. Blut vor dem Versuch: Hämoglobin 87%, Erythrocyten 5500000, Leukocyten 7000, Lympho- und Histiocyten 82%, Granulocyten 18%. Am 4., 7. und 11. Tage bekam das Tier außer einer entsprechenden Gabe von Benzol noch zu je 10,0 1 proz. Trypanblaulösung in die Blutadern. Blutbild am 11. Tage: Hämoglobin 58%, Erythrocyten 3500000, Leukocyten 800, Lympho- und Histiocyten 55%, Granulocyten 45%.

Kaninchen Nr. 5, 1750 g schwer, bekam Benzol 20 Tage lang zu je 0,9 täglich. Tod am 20. Tage einige Minuten nach der letzten Benzoleinspritzung mit einem Gewicht von 1730,0 g. Blut vor dem Versuch: Hämoglobin 100%, Erythrocyten 6000000, Leukocyten 5000, Lympho- und Histiocyten 82%, Granulocyten 18%. Im Laufe des Versuches dreimal Bestimmung der Widerstandsfähigkeit der Ery-

¹ Wir führen nicht die Niederschriften der sämtlichen Versuche an, denn viele von denselben geben ein ganz ähnliches Bild.

throcyten¹. Am 2. Tage des Versuches höchst 0,42, mindest 0,47, am 5. Tage höchst 0,42, mindest 0,5 und am 15. Tage höchst 0,44, mindest 0,5. Blutplättchenzahl schwankte während der ganzen Versuchsdauer von 700000 bis zu 1000000 (nach Fonio). Blutbild am 19. Tage: Hämoglobin 82%, Erythrocyten 5600000, Leukocyten 2000, Lympho- und Histiocyt 54%, Granulocyt 46%.

Kaninchen Nr. 6, 2450,0 g schwer, entmilzt; vom 18. Tage² nach der Operation an täglich Benzoleinspritzungen unter die Haut zu je 2,5—3,0. Tod am 19. Tage; Gewicht 1700,0 g. Blut einen Tag vor der Benzoleinspritzung: Hämoglobin 68%, Erythrocyten 6130000, Leukocyten 12700, Lympho- und Histiocyt 80%, Granulocyt 20%. Benzolleukopenie trat langsam ein: am 19. Tage des Versuches noch 3000 Leukocyten in 1 cmm.

An diesem Tage machten wir dem Kaninchen eine Rippenresektion unter Äthernarkose zur Untersuchung des Knochenmarks. *Bild des Knochenmarks*: zellreich, vorwiegend verschiedene Stadien von Erythro- und Normoblasten und große Zellen mit rundem oder eingebuchtetem netzförmigen Kern und azurophiler Granulierung (Promyelocyten), weiter einzelne endotheliale rote Blutkörperchenhaltige Zellen; Peroxydasereaktion nach Graham überall negativ.

Nach der Operation rasche Blutveränderung. Am 16. Tage: Hämoglobin 40%, Erythrocyten 3500000, Leukocyten 460, Lympho- und Histiocyt 72%, Pseudoeosinophile 28%. Am 17. Tage: Leukocyten 220, Lympho- und Histiocyt 88%, Pseudoeosinophile 12%; am nächsten Tage Tod. Gewicht 1700,0 g.

Kaninchen Nr. 7, 2500,0 g, entmilzt nach 10 Tagen, täglich Benzolgaben von 2,5—5,0, im ganzen 14 Tage lang unter die Haut. Blut vor dem Versuche (am 8. Tag nach der Entmilzung): Hämoglobin 75%, Erythrocyten 5700000, Leukocyten 11000; Formel: Lympho- und Histiocyt 78%, Granulocyt 20%, Plasmazellen 2%. Während des Versuches langsames Eintreten der Leukopenie, am 9. Tag noch 2300 Leukocyten in 1 cmm bei Benzolgaben von 4,0—5,0. Am 10. Tage 1500 Leukocyten, am 12. Tage 650, am 14. Tage 288. Rotes Blutbild im Verlaufe der Benzoleinführung verhältnismäßig wenig verändert: Hämoglobin zwischen 75—59%, Erythrocytenzahl zwischen 4280000—6460000. Am 14. Tage: Hämoglobin 63%, Erythrocyten 4280000, Lympho- und Histiocyt 60%, Plasmazellen 10%, Granulocyt 30%; außerdem nackte Kerne 11%, Normoblasten 7%.

Kaninchen Nr. 8, 1800,0 g, bekam an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 10,0 1 proz. Trypanblaulösung in die Blutbahn; am dritten Tage Beginn der Benzoleinspritzungen in Mengen von 1,8—2,5. Tod 10 Tage nach Versuchsbeginn (7 Tage Benzol). Blut nach der Trypanblaueinführung: Hämoglobin 65%, Erythrocyten 6110000, Leukocyten 5900, Lympho- und Histiocyt 78%, Granulocyt 22%. Rasches Entstehen der Leukopenie; schon nach 2 Tagen (1,8 und 2,0) nur noch 770 Leukocyten in 1 cmm; nach 5 Tagen 450, am Todestage 350, mit der Formel: Lympho- und Histiocyt 14%, Basophile 2% und 84% der Zellen mit großen azurophilen Körnchen im Protoplasma, teilweise (bis 4%) mit segmentierten, teilweise mit sehr blaß sich färbenden Kernen von unregelmäßiger Form ohne eine sichtbare Segmentierung. Rotes Blutbild fast unverändert; am Todestag: Hämoglobin 65%, Erythrocyten 6390000.

Kaninchen Nr. 9, 1300,0 g, bekam zwei Tage je 10,0 1 proz. Kongorotlösung in die Blutadern, dann Benzol in Gaben von 1,5—3,0. Blut nach den Farbstoff-

¹ Im Zeitraum zwischen zwei nachfolgenden Einspritzungen.

² Diese Frist haben wir nach dem Blutbilde des Kaninchens gewählt; nämlich wir warteten auf den Zeitpunkt, wo das reticulo-endotheliale System des Tieres einen gewissen Gleichgewichtszustand erreicht hatte: sofort nach der Entmilzung enthielt das Kaninchenblut 7—12% großer Monocyten und 1% Endothel; am 18. Tage 2% große Monocyten und kein Endothel.

einspritzungen: Hämoglobin 65%, Erythrocyten 7250000, Leukocyten 6000; Lympho- und Histiocyten 69%, Granulocyten 31%; ungefähr 1% Normoblasten und 9% nackter Kerne. Tod am 12. Tage, Eintritt der Leukopenie allmählich und verhältnismäßig langsam; 3 Tage vor dem Tode noch 1100 Leukocyten. Am 12. Tage: Hämoglobin 58%, Erythrocyten 4900000, Leukocyten 200; Lympho- und Histiocyten 92%, Granulocyten 8%, Normoblasten bis 8%.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Blutaussstriche konnten wir in sämtlichen Fällen eine allmähliche Zunahme der Zahl der Polychromatophilen, Makro- und Mikrocyten, Normoblasten und der sog. nackten Kerne verzeichnen. Während der Benzolvergiftung der Tiere wurde die Granulierung der neutro- und pseudoeosinophilen Leukocyten auch verändert, so daß die feine, gleichmäßig geordnete Protoplasma-granulierung sich in starke, metachromatisch sich färbende, zuweilen fast schwarze Körner verwandelte. Nach der Art ihrer Granulierung könnte man diese Zellen den Basophilen zuzählen, jedoch der für die Neutro- und Pseudoeosinophilen kennzeichnende Bau der Kerne war für uns entscheidend, diesen Zellen den ihnen zugehörigen Platz anzuzuweisen. Wir fanden außerdem in einem geringen Prozentsatz Plasmazellen und Lymphoblasten, die wir den Lymphocyten zuzählten. Die obenangeführten klinischen Ergebnisse der Versuche berechtigen uns zu folgenden Erwägungen: 1. Benzol verändert das rote Blut scheinbar geringer als das weiße; wir sehen, daß z. B. die Meerschweinchen Nr. 6 und 10 und die Kaninchen Nr. 3, 5, 8 und 9 nur geringe Veränderungen des Hb-Wertes und der Zahl der roten Blutkörperchen zeigten; bei den Kaninchen Nr. 4 und 6 beobachtet man ein Sinken des Hb und der Erythrocytenzahl um nur 30—40%. 2. Man kann bei Kaninchen verhältnismäßig schnell Leukopenie erzeugen, während bei Meerschweinchen eine Verminderung der Leukocytenzahl bis zu mehreren Hunderten bei uns niemals erreicht werden konnte. Das Meerschweinchen Nr. 4, welchem große Benzolgaben (bis zu 4,0 auf 750,0 Gewicht) einverleibt wurden, wies erst am 19. Tage eine Leukopenie von 1100 Leukocyten auf; in den anderen mit größeren Mengen und mit langer Versuchsdauer durchgeföhrten Fällen blieb die Leukocytenzahl des Blutes fast in den gewöhnlichen Grenzen (10—12000). Diese Tatsache unterstreichen wir ganz besonders und werden sie etwas später zu erklären suchen. 3. Es ergibt sich aus unseren Befunden, daß unter der Wirkung des Benzols durchaus nicht immer eine Verminderung der Granulocytenzahl erfolgt; im Gegenteil, wir erhielten bei sämtlichen Versuchsmeerschweinchen eine Vergrößerung der Prozent- und der absoluten Zahl der vielkernigen Zellen, was *Pappenheims* Ansicht entspricht; bei Kaninchen wurde ein bunteres Bild beobachtet: bei den einen (wie Nr. 3 und 6) verließ der Versuch mit einer Verminderung der Granulocyten, bei den anderen (wie Nr. 2 und 4) wurde dagegen eine Vergrößerung der relativen Granulocytenzahl festgestellt.

Aus den Versuchsniederschriften kann man ersehen, daß die Tiere der ersten Reihe durch Benzol allein vergiftet wurden, die der zweiten Reihe bekamen außer Benzol noch andere Stoffe.

Die Verminderung der Zahl des einen oder anderen Teiles der weißen Blutkörperchen stand also bei unseren Benzoleinverleibungen im Zusammenhang mit der Tierart und der Anwendung einiger Zusätze, wie Pferdeserum und Trypanblaulösung. 4. Die Widerstandsfähigkeit der roten Blutzellen und der Blutplättchenzahl zeigt während des Versuchs fast keine Veränderungen (die Schwankungen liegen in den Fehlergrenzen der Methodik). 5. Das Vorhandensein pathologischer Erythrocytenformen in den Blautausstrichspräparaten kann als Ergebnis der Schädigung der roten Blutkörperchen durch das Benzol betrachtet werden. 6. Die fortschreitende Steigerung der Normoblastenzahl bei geringer Veränderung der Zahl der Erythrocyten spricht für genügend ausgeprägte Regeneration des roten Blutes während der Benzolvergiftung. 7. Die Gewichtsabnahme der Tiere bei Benzolvergiftung geht in gewissem Maße dem Grade der erzielten Leukopenie parallel.

Der makroskopische Sektionsbefund.

In den meisten Fällen ist das Sektionsbild ein und dasselbe; wir können daher eine gemeinsame Beschreibung geben.

Unterhautfettgewebe der Tiere ist je nach den Versuchsbedingungen aufgebraucht. Starke Blutstauung in sämtlichen Organen. Punktförmige Blutergüsse in den serösen Häuten, in einzelnen Fällen ischämische Infarkte in Leber und Lungen. *Knochenmark* bei Meerschweinchen blutreich, saftig; bei Kaninchen jedoch stark verringert, seinem Aussehen nach dem Blute ähnlich; Knochenmark von Kaninchen Nr. 6 ließ sich aus der Knochenhöhle wie ein Fibrinklumpen herausnehmen. *Milz* der Meerschweinchen nur blutreich, die der Kaninchen jedoch stark verkleinert. *Lymphknoten* der Meerschweinchen fast ohne Veränderungen; bei den meisten Kaninchen dagegen so klein, daß es schwer fiel, sie aufzufinden. *Lungen* lufthaltig, stark blutüberfüllt, ödematos. *Herzfleisch* welk, grau, wie gekochtes Fleisch aussehend. *Darm* geschrumpft, Schleimhaut blutüberfüllt. *Leber* blutreich, weich, lehmfarbig. *Bauchspeicheldrüse* o. B.; *Nieren* blutreich. *Thymus* klein, trocken; *Nebennieren* gewöhnlich groß; Markschieht blutüberfüllt, Rinde lipoidreich. *Großhirn* blutüberfüllt, sehr welk.

Histologische Untersuchung.

Technik. Gefriermikrotom und Celloidinschnitte; Fixierung in Formalin und Orthscher Flüssigkeit; zuweilen Aceton. Färbung nach Giemsa, Hämatox.-Eosin, Sudan III, Nilblausulfat, nach Perls auf Eisen; die oxydase Reaktion nach dem Benzidinverfahren.

Meerschweinchen.

Nr. 1. *Knochenmark*: Starke Blutfüllung; Gewebe reich an ziemlich großen Zellen mit runden oder hufeisig gekrümmten Kernen, deren Zelleib teils oxyphil gekörnt, teils ungekörnt ist (Abb. 1). *Milz*: stark blutüberfüllt; mäßige Ver-

ringeringer der Knötchen; Sinus erweitert, ihre Lichtung von großen, dem Endotheltypus angehörenden Zellen angefüllt, die rote Blutzellen oder Trümmer davon enthalten; in der Pula eine bedeutende Zahl von Zellen mit segmentierten Kernen und mit neutro- oder eosinophiler Körnelung; außerdem noch eine ziemlich große Zahl erythroblastischer Formen von Proerythroblasten bis Normoblasten. *Lymphknoten*: Kein deutliches Bild, Knötchen nicht sichtbar; Rindenschicht aus diffuser Häufung von Lymphoidzellen bestehend; in der Markschicht Wucherung des Sinusendothels und eine beträchtliche Zahl von Neutro- und Eosinophilen. *Lungen*: Bläschen leer; Zwischengewebe enthält Histiocyten und eosinophile Leukocyten. *Myokard*: Muskelfasern gequollen; die Querstreifung stellenweise unsichtbar; an solchen Stellen auch die Kerne schlecht färbbar. *Leber*: Die Glissonsche Kapsel von eosinophilen Leukozyten durchsetzt. Leberzellen grobkörnig, manche mit großen Fetttropfen. In den Kupferschen Zellen deutlich Erytrophagie; im Lumen einzelner Capillaren eosinophile Zellen. *Niere*: Endothel der Glomeruli stark gequollen, Grenzen zwischen den Zellen verwischt; einzelne Eosinophile in den Capillaren. Leib der Epithelien der gewundenen Kanälchen grobkörnig, stark gequollen; stellenweise kernlose Zellen; in Kanälchenlichtung sich blaßfärbende Erythrocyten. *Thymus*: Hyperämie und Ödem des interlobulären Bindegewebes; die Außenzone besteht aus Lymphoidzellen, die zentrale Zone aus retikulären Zellen, teils mit eosinophiler Granulation. Einige Hassalsche Körperchen, hauptsächlich von homogenem Aussehen und mit Einschlüssen aus Neutro- und Eosinophilen. *Nebenniere*: Es sind viele Lipoide in der Rinde, im Protoplasma der Markschichtzellen Schollen braunen Pigments.

Meerschweinchen Nr. 2. Knochenmark: Hyperämie; beträchtliche Zahl der großen einkernigen Zellen, viele segmentierte Eosinophile, ein wenig Normoblasten. *Milz*: Starke Wucherung des Sinusendothels, ausgeprägte Erytrophagie; neben den Erytrophagen verschiedene Erythroblastenformen; (Abb. 2) beträchtliche Zahl von Neutro- und Eosinophilen. *Lymphknoten*: Große Keimzentren in den Knötchen; rings um sie mit Hämosiderin beladene Zellen; Wucherung der reticulo-endothelialen Zellen in der Markschicht. *Lungen* wie im vorhergehenden Falle; außerdem enthalten die großen Zellen der Alveolarsepten teils Erythrocyten, teils braunes Pigment. *Myokard*, *Leber*, *Nieren*, *Thymusdrüse* und *Nebennieren* wie bei dem Meerschweinchen Nr. 1.

Meerschweinchen Nr. 4. Knochenmark: Zellreich; hauptsächlich Endothelien mit lockeren verkrümmten Kernen; stellenweise Mitosen; ziemlich viel Normoblasten, einzelne Megaloblasten und wenige Erythroblasten. *Milz*: Starke

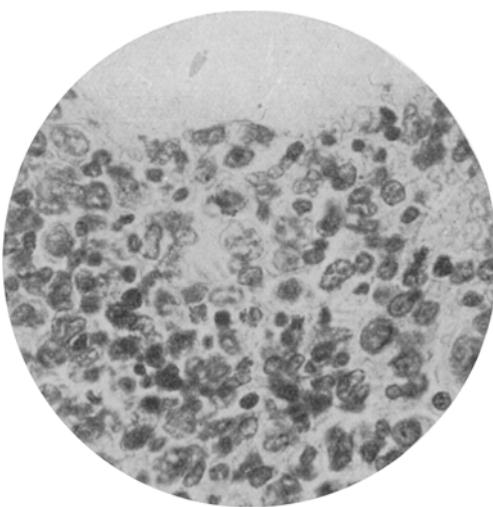
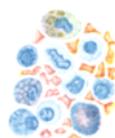


Abb. 1. Öl-Immersion.

Abb. 2. Giemsa.
Öl-Immersion.

Hyperämie; die Knötchen sind groß und bestehen aus epitheloiden Zellen im Zentrum und aus Megalo- und Normoblasten in der Peripherie. Sinus stark erweitert, stellenweise in ihnen gequollene Endothelien mit Erythrocytenträmmern im Protoplasma; außerdem eine kleine Anzahl segmentkerniger Neutrophilen. *Lymphknoten*: Keine Knötchen; das Gewebe besteht hauptsächlich aus basophilen Proerythroblasten, Megalo- und Normoblasten. Stellenweise große Endothelien mit Erythrocytenträmmern oder mit kleinen Vakuolen (schaumiges Protoplasma).

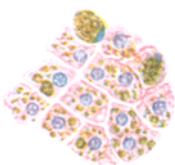


Abb. 3. Häm.-Eos.
Öl-Immersion.

Lungen wie bei Nr. 1 und 2. *Leber*: Ausgedehnte Nekrose unter der Kapsel; Leberzellen stark vakuolisiert; Kerne in der Läppchenmitte ungefärbt, an den Rändern aus einzelnen stabförmigen Chromatinstückchen bestehend. In den Leberzellen befindliche Vakuolen nach Giemsa hellrosa, durch Sudan III gelb gefärbt. Kupffer-Zellen mit teils pyknotisch aussehenden, teils segmentierten Kernen. Stellenweise in den Lebercapillaren Erythroblasten und Eosinophile vorhanden. *Übrige Organe* wie in den vorhergehenden Fällen.

Meerschweinchen Nr. 6. Knochenmark: Sehr zellenreich; meist einkernige Eosinophile, Monocyten und segmentierte Neutrophile. *Milz*: Subkapsuläre Blutergüsse; Knötchen groß, an ihrem Rande Erythroblasten. Pulpa reich an einkernigen Zellen, die starke Erythrophagie zeigen; außerdem beträchtliche Zahl von segmentierten Neutro- und Eosinophilen und eisenpigmenthaltigen Monocyten. *Lymphknoten*: Der Bau nicht erkennbar; Zellen: vorwiegend Erythroblasten und Histiocyten; genügend Eosinophile und wenig Neutrophile. *Lungen*: Starke Hyperämie; Histiocyten, Eosinophile und große einkernige hämosiderinbeladene Zellen in den Alveolarsepten. *Myokard*: Degenerative Veränderungen. *Leber*: Hyperämie; starke trübe Schwellung der Leberzellen; man sieht fast keine Kupffersche Zellen von gewöhnlichem Aussehen; anstatt dessen sind in den Capillaren segmenthaltige Neutrophile und Eosinophile vorhanden. *Niere*: Schwache Wucherung des Endothels der Glomeruli; körnige Entartung des Epithels der gewundenen

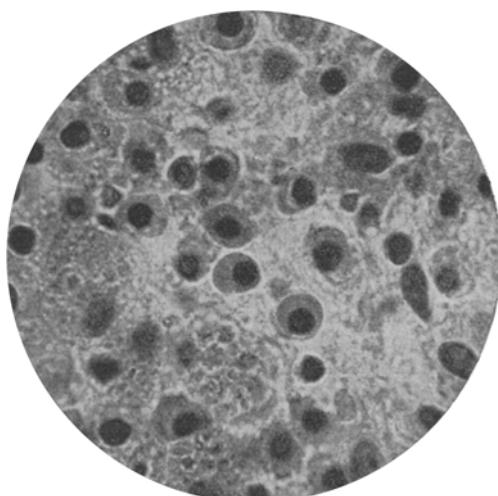


Abb. 4. Öl-Immersion.

Kanälchen; in dessen Lumen Erythrocyten. *Nebennieren*: Lipoide der Rinde gut ausgeprägt; retikuläre Zellen der Markzone mit Erythrocyten angefüllt; kleine Erythrocytenträümmer in den Zellen der Zonae reticularis. Eisenreaktion negativ (Abb. 3).

Kaninchen Nr. 1. Milz: Starke Hyperämie; stellenweise Blutergüsse; Knötchen unsichtbar; Pulporetikulumzellen stark gequollen, ihr Leib mit Erythrocyten gefüllt; Sinus erweitert; in deren Lichtung und in den Gefäßen blaß sich färbende, teils kernlose Endothelien mit vakuolisiertem Protoplasma zu sehen; hier und

dort sind Erythrocytenträümmer zu erkennen. *Leber*: Hyperämie; Leberzellen stark vakuolisiert; Kerne in der Läppchenmitte ungefärbt, an den Rändern aus einzelnen stabförmigen Chromatinstückchen bestehend. In den Leberzellen befindliche Vakuolen nach Giemsa hellrosa, durch Sudan III gelb gefärbt. Kupffer-Zellen mit teils pyknotisch aussehenden, teils segmentierten Kernen. Stellenweise in den Lebercapillaren Erythroblasten und Eosinophile vorhanden. *Übrige Organe* wie in den vorhergehenden Fällen.

da einzelne oder sich zusammenhäufende Erythroblasten (Abb. 4). *Lymphknoten*: Starke Hyperämie, Blutungen; r. e. Zellen teils mit kleinen Erythrocytenträmmern beladen, teils mit eosinophiler Granulation; stellenweise Proerythroblasten und Normoblasten. *Leber*: Hyperämie und bakterielle Embolie der Capillare; starke Degeneration der Leberzellen; Kerne in Karyorexis oder ganz verschwunden; in einzelnen Stellen färben sich die Leberzellen durch Eosin sehr stark und haben ein vakuolisiertes Protoplasma; in den Capillaren statt Kupfferschen Zellen freie Kerne. *Nieren*: Starke Hyperämie der Glomeruli; bakterielle Embolie derselben; starke körnige Degeneration der Epithelien von gewundenen Kanälchen; im Epithel und im Lumen der geraden Kanälchen körniges, grünliches Pigment. *Lunge*: Starke Hyperämie; in den Capillaren viele Bakterienpfröpfe; in den Alveolarsepten bedeutende Wucherung von Histiocyten, ziemlich viel segmentkernige Leukocyten und einzelne Eosinophile. *Nebennieren*: Hyperämie; bakterielle Capillarembole.

Kaninchen Nr. 2. Knochenmark: Sinus mit Blut angefüllt; zellarm; hauptsächlich monocytoide Zellen mit feiner rötlicher Granulation, teils mit Vakuolen, teils roten Blutzellen im Leib; außerdem kleine Anzahl von Erythroblasten, Riesenzellen und Endothelien mit gelblichen Schollen. *Milz*: Ziernlich große Knötchen aus lymphoiden Zellen und aus großen, mit feinen Körnchen braunen Pigments beladenen Monocytenten; Eisenreaktion in diesen Zellen positiv. Pulpa blutreich, ihre reticulo-endothelialen Zellen enthalten ein feines braunes Pigment, außerdem sind einzelne Erythroblasten zu finden. Billrothschen Stränge bestehen fast ausschließlich aus Histiomonocyten. *Lymphknoten*: Knötelchenbau der Rindschicht noch sichtbar; Reticulumzellen mit roten Blutzellen gefüllt, daneben die einzelnen Formen der Erythropoese sichtbar; außerdem wenige Pseudo-eosinophile. Sinus und Capillaren der Marksicht erweitert. Rings um die erweiterten Capillaren herum mehrere Zellschichten von Proerythroblasten und Normoblasten; Endothelien eisenpigmenthaltig. *Lungen*: Starke Blutstauung. *Leber*: Grenzen der Leberzellen unsichtbar, Protoplasma körnig und vakuoliert, Kerne schlecht färbbar; die feinen gelblichen Körnchen im Protoplasma der Leberzellen geben keine Eisenreaktion und werden bei Sudanfärbung orangefarbig (Lipofuscin); wenig Kupffersche Zellen. *Nieren*: Starke Entartung der Epithelien der gewundenen Kanälchen, in ihrer Lichtung Erythrocyten. *Myokard*: Die Muskelfasern stark gequollen, Querstreifung unsichtbar. *Nebenniere*: Anhäufung von Lipoiden in den Zellen der Rinden- und Marksicht; das Protoplasma der Markzellen gequollen, Zellgrenzen unsichtbar.

Kaninchen Nr. 3. Knochenmark: Etwas mehr Zellen als in dem vorangehenden Fall; vornehmlich Erythroblasten und Normoblasten; einzelne endotheliale und retikuläre Zellen mit feinen, gelblichen Körnchen (Abb. 5). *Milz*: Kapsel und Bälkchen verdichtet; Knötchen klein und enthalten nur lymphoide Zellen; in der äußeren Zone Erythrophagen und einzelne Erythroblasten. Sehr starke Erythrophagie in den großen und kleinen Monocytenten der Pulpa. *Lymphknoten*: Ganz verschwunden. *Lungen*: Starke Hyperämie; Alveolen leer; im Lungenterstitium große endothelähnliche Zellen, Histiocyten und wenig segmentierte Leukocyten. *Myokard*: Sehr bedeutende Schwellung der Muskelfasern, Querstreifung unsichtbar, die einzelnen Muskelfasern durch Eosin ganz ungleich gefärbt; ein Teil nimmt eine bestimmte Rosafärbung an, andere Teil bleibt ungefärbt; an der Grenze dieser beiden Schichten blasser, gruppenweise neben den Kernen in den Fasern liegende Erythrocyten. *Leber*: Fast ähnliches Bild wie im vorhergehenden Falle. *Nieren*: Degeneration der Epithelien der gewundenen Kanälchen; im Protoplasma der epithelialen Zellen stellenweise zerkleinerte Erythrocyten. *Thymus*: Sehr kleine Reste des Drüsengewebes; nur Reticulum-

zellen und einzelne Hassalsche Körperchen vorhanden. *Bauchspeicheldrüse*: Der zum Lumen gerichtete Teil der Epithelzellen mit rosaroter grober, der eosinophilen ganz ähnlichen Körnelung. *Wurmfortsatz*: Knötchen unsichtbar; Schleimhaut enthält Histiocyten und Erythroblasten.

Kaninchen Nr. 4. Knochenmark (des Schenkelbeins): Zellreich; vorwiegend Erythroblasten, daneben einzelne segmentierte Leukocyten und einige Endothelien mit Trypanblaukörnchen. *Knochenmark* (des Brustbeins): Zellarm; vorhanden: Monocyten, Riesenzellen, segmentierte Leukocyten und Erythroblasten. Reticulumzellen mit großen gelben Pigmentkörnern. *Milz*: Kapsel verdichtet; Knötchen fast unsichtbar; rings um die zentralen Arterien nur wenig Histiocyten; starke Blutstauung der Pulpa, reichliche Erythropagie; keine Trypanblaukörnchen. Eisenreaktion nur in den mit Erythrocytenträmmern beladenen Zellen. *Lymphknoten*: Zeigen zwei voneinander abweichende Bilder. In einigen Lymphknoten starke Verarmung von Zellen, so daß das verdichtete Reticulum mit großen retikulären, von Trypanblau beladenen Zellen deutlich ausgesondert wird; stellenweise sind einzelne Lymphoidzellen und segmentierte Leukocyten mit schwarzen Körnern im Protoplasma vorhanden. In anderen Lymphknoten auch noch andere Veränderungen: Randteil des Knotens besteht aus Fibroblasten und monocytoiden Zellen; in der Mitte ein großer Bluteruß und zwischen den angehäuften Erythrocyten einzelne aus Erythroblasten bestehende Inseln. In den monocytären und Reticulumzellen Trypanblaukörper. *Lungen*: Beträchtliche Zahl von Pseudoeosinophilen im Zwischen Gewebe. *Myokard*: Fasern gequollen, Querstreifung unsichtbar; Histiocyten sind mit Trypanblau beladen. *Leber*: Leberzellen besitzen stark vakuolisiertes

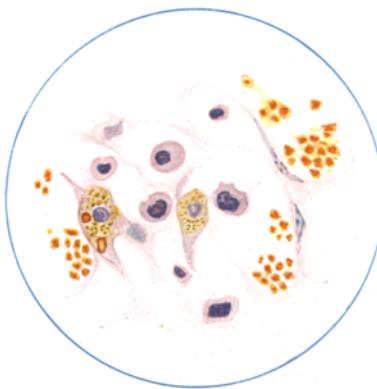


Abb. 5. Häm.-Eos. Öl-Immersion.

Protoplasma mit vielen schwärzlichen Körnchen; ziemlich gut färbbar. Wenig Kupfersche Sternzellen mit schwarzen Körnern. *Niere*: Körnige Entartung der Epithelien der gewundenen Kanälchen, in ihrer Lichtung stark gequollene Erythrocyten. *Thymus*: Reticulumzellen mit schwarzen Körnchen beladen. *Nebennieren*: In Histiocyten Trypanblaukörper.

Kaninchen Nr. 5. Knochenmark: Zellreich; hauptsächlich große, einkernige Zellen, dann einzelne Häufchen von Normoblasten, eine beträchtliche Zahl von Pseudoeosinophilen und einige stab- und segmentkernige Zellen. Viel Blut in den Sinus, einzelne Riesenzellen. *Milz*: Keine Verdichtung der Kapsel; Knötchen groß; in der Mitte Lymphoidzellen, weiter eine Zone teils von epitheloiden Zellen, teils von Proerythroblasten und einigen Eosinophilen. *Pulpa*: Blutreich, zeigt starke Erythropagie, im Lumen der Sinus abgestoßene Endothelzellen; in den Billrothschen Strängen vorwiegend monocytoide Zellen. *Lymphknoten* wurden während der Sektion nicht gefunden. *Leber*: Leberzellen von eigenständlichem Aussehen; ihre Kerne meist gut färbbar, Protoplasma stark rosarot gefärbt, aus einzelnen in einem netzförmigen Grundstoff liegenden Stückchen bestehend; außerdem in den Zellen feinkörniges gelbliches Pigment; die meisten Kupferschen Zellen zeigen ausgesprochene Sternform. *Lungen*: Capillaren der Alveolarsepten mit Erythrocyten so angefüllt, daß das gesamte Lungengewebe wie eine kompakte Masse von roten Blutkörperchen aussieht; in den Alveolar-

septen sind nur einige einkernige Zellen — teils in mitotischer Teilung — vorhanden. *Myokard*: Fasern gequollen, verschmelzen zu homogenen Massen; Querstreifung unsichtbar. Erythrophagie in den Muskelfasern mit Ausbildung von Vakuolen um die aufgenommenen Erythrocyten. *Nieren*: Starke Hyperämie; schwache Wucherung des Glomerulusendothels; sehr viel Erythrocyten im Lumen der gewundenen Kanälchen, deren Epithel gekörnt, Kerne stellenweise verschwunden. *Thymus*: Im Fettbindegewebe Thymusreste; die Läppchen klein, bestehen aus Lymphoidzellen; an der Peripherie ist eine beträchtliche Zahl von Eosinophilen vorhanden; Hassalsche Körperchen vermisst. *Nebenniere*: Die Markzellen zeigen diffuse grünliche Färbung; in einigen von ihnen Vakuolen, in anderen schwachgefärzte Erythrocyten. In der Rinde Blutüberfüllung und reichlich viel Lipoid. *Wurmfortsatz*: Große Knöpfchen mit gut ausgebildeten Keimzentren, in deren Zellen starke Erythrophagie. Unterschleimhaut enthält fast ausschließlich Proerythroblasten und Normoblasten; der an das Lumen des Wurmfortsatzes angrenzende Teil des Protoplasmas der Epithelienv enthält Erythrocyten; dabei kann man grünlichgelbe Färbung einiger Epithelzellen und Fehlen eines Kernes in ihnen sehen.

Kaninchen Nr. 6 (entmiltzt). *Knochenmark* (Ausstriche aus Rippenmark): Wenig Zellen; stark pyknotische nackte Kerne, Zellen mit netzförmigem blauen Protoplasma und mit für die Erythroblasten charakteristischen Kernen, retikuläre Zellen, einzelne Myeloblasten und Zellen mit segmentierten Kernen und azuophiler Granulierung; eine kleine Anzahl basophiler Erythroblasten und Normoblasten mit segmentierten Kernen. (Ausstriche aus Schenkelbeinmark): Nur einzelne Zellen im Gesichtsfeld; vorwiegend Endothelien mit netzförmigem Kern und mehreren Kernkörperchen, dann verschiedene Stadien von Erythro- und Normoblasten; einzelne Erythrophage. *Knochenmark* (Schnitte): Die Fettvakuolen sind durch ein mit Erythrocyten angefülltes Fibrinnetz getrennt; in diesem Netz ist eine kleine Zahl von Zellen vorhanden, hauptsächlich Erythro- und Normoblasten, oft in Häufchen angesammelt, einzelne Pseudoeosinophile und eine kleine Anzahl von Endothel- und Reticulumzellen mit gelben Pigmentkörnchen. *Lymphknoten*: Reticulum verdichtet, ödematos; gelbes Pigment in den Reticulumzellen; Bau der Lymphknoten nicht erkennbar; Zellenanhäufungen verschiedener Größe um die Capillaren, wahrscheinlich Proerythroblasten und Monocyten. *Leber*: Kapsel o. B., Capillaren erweitert, mit Blut angefüllt, Kupfersche Zellen gequollen, je 4—6 rote Blutzellen enthaltend; die phagocytierten Erythrocyten färben sich mit Eosin, die Kupferschen Zellen verlieren jedoch teils ihre Kerne. Leberzellen von verschiedenem Aussehen: einige enthalten rote Blutzellen, andere enthalten Fetttropfen und feines gelbes Pigment. Eisenreaktion negativ. *Lungen*: Starke Blutüberfüllung, in den Alveolarsepten sind nur wenige Histiocyten und einzelne segmentierte Leukocyten; teilweise feines gelbes Pigment in den Zellen. Fast alle Capillaren mit rote Blutzellen enthaltenden faserigen Massen angefüllt. Eosin gibt schwach rosarote, Sudan orangengelbe, Nilblausulfat schwach blaue Färbung. *Myokard* im wesentlichen wie bei Kaninchen Nr. 5. *Nieren* im wesentlichen wie bei Kaninchen Nr. 5, nur sind die Kanälchenlichtungen anstatt mit roten Blutzellen mit feinkörnigen Massen gefüllt. *Nebennieren*: Erythrophagie in den Reticulumzellen des Marks; Rindenzellen sehr lipoidreich. *Wurmfortsatz*: Starke Erythrophagie und eine beträchtliche Zahl von Erythroblasten in der Unterschleimhaut; die Zellen der Knöpfchen zeigen Nekrose mit Karyorexis. *Verschiedene Darmteile*: Die Drüsenepithelien färben sich stellenweise mit Eosin stark rosarot, stellenweise enthalten sie Erythrocyten, stellenweise sind sie kernlos,nekrotisch; viel abgestoßene Epithelzellen im Darmlumen; Knöpfchen unsichtbar; feinkörniges gelbes Pigment in den Histiocyten der Schleimhaut; in der Unterschleimhaut einzelne Erythroblasten.

Kaninchen Nr. 7. Knochenmark: Starke Blutfüllung; mäßige Zellenzahl, vorwiegend in Form von Häufchen monocytoider Zellen; in manchen Kariokinese; ziemlich viel Erythro- und Normoblasten, wenig segmentierte Leukocyten und einzelne Megakaryocyten. Im Leib der Reticulumzellen und der Monocyten gelbliches Pigment mit negativer Eisenreaktion. *Lymphknoten:* In der äußeren Zone Knötchenreste; im Mark starke Wucherung der Reticulumzellen; völliges Fehlen von Lymphoidzellen; starke Erythrophagie, in den Reticulumzellen feinkörniges gelbliches Pigment; einzelne Proerythroblasten und Granulocyten. *Leber:* Buntes Bild; große Nekroseherde mit starker Eosinfärbung des Protoplasmas der Zellen; Kerne nicht färbar. Zwischen diesen Nekroseherden Teile des weniger veränderten Leberparenchyms. Hier ist das Protoplasma der Leberzellen körnig, fein vacuolisiert, enthält ein feines gelbliches Pigment. Die Lebergefäße sind mit Blut gefüllt. Die Nekroseherde sind teils um die zentralen Venen, teils weit von diesen gelagert. Kupffersche Zellen mit Fettropfen gefüllt; Pigment wird durch Sudan gelb, durch Nilblausulfat blau gefärbt. Eisenreaktion negativ. *Lungen:* Starke Hyperämie; Alveolen gedehnt; in manchen Capillaren homogene, durch Sudan sich blaufärbende Massen; in den Alveolarsepten Histiocyten mit Fettropfen und segmentierte Granulocyten. *Myokard:* Feintröpfige Verfettung einzelner Gruppen der Herzmuskelfaser; Querstreifung unsichtbar; stellenweise Erythrophagie. *Niere:* Befund wie bei Nr. 6. *Nebenniere:* Lipoidreiche Rinde. *Wurmfortsatz:* Starke Erythrophagie; in den großen Zellen der Knötchenmitte stellenweise gelbliches Pigment; ziemlich viel Proerythroblasten im subepithelialen Bindegewebe.

Kaninchen Nr. 8. Knochenmark: Hyperämie; zellarm; Endothel- und Reticulumzellen mit bläulichem Pigment (Trypanblau); einzelne segmentierte und stabkernige Pseudoeosinophile und Megakaryocyten und wenig Erythro- und Normoblasten. *Milz:* Kapsel und Trabekel verdickt; Knötchen unsichtbar; Pulpa blutüberfüllt; Wucherung der Sinusendothelien und adventiellen Zellen; in beiden — verschiedener Größe gelbe, teils erythrocytenähnliche, teils amorphe Schollen. Bei der Probe auf Eisen geben die einen von diesen Schollen grünlichblaue Farbe, die anderen bleiben gelb; nach Sudanfärbung sind einige Schollen orange gefärbt; in den frei im Sinus liegenden Endothelzellen bläulich-schwarzes Pigment (Trypanblau). *Lymphknoten* sind so klein, daß der ganze Knoten in einem Gesichtsfeld liegt (Obj. Nr. 3). Stellenweise sieht man das nackte Reticulum, stellenweise Proerythroblasteninseln; das Gewebe besteht hauptsächlich aus großen durchsichtigen vacuolisierten Zellen, deren Kerne an den Rand gedrängt oder ganz verschwunden sind; im Protoplasma dieser Zellen liegen feine schwarze Trypanblaukörnchen. *Leber:* Manche Zellen ganz blaß gefärbt, kernlos; in den meisten Zellen braunes Pigment; wenig Kupffersche Zellen; feintröpfige Verfettung der Leberzellen. *Lungen:* Befund wie im vorigen Fall; keine Trypanblauspeicherung. *Myokard:* Muskelfaser gequollen, Querstreifung verschwommen; stellenweise Erythrocyten in den Muskelfasern; in den Histiocyten des Zwischen gewebes feine Trypanblaukörnchen. *Nieren* wie im vorigen Falle. *Nebennieren:* Rinde lipoidreich, außer in der Zona glomerulosa. *Wurmfortsatz:* Reste der aus lymphoiden Zellen zusammengesetzten Knötchen; in der Schleimhaut viel Zellen mit vacuolisiertem Protoplasma, teils mit Erythrocyten, teils mit gelblichem Pigment. Stellenweise eine Ansammlung von Cocciden und daneben eine eosinophile Umwandlung des Drüseneipithels mit Kernverlust.

Kaninchen Nr. 9. Knochenmark: Zellarm; hauptsächlich Endothel mit vacuoliertem Protoplasma, Reticulumzellen, Proerythroblasten, einzelne Normoblasten und Lymphocyten. *Milz:* Kapsel und Trabekel etwas verdickt; Knötchen klein; in der Pulpa Erweiterung der Sinus, Wucherung und Abstoßung des Endothels. Dieses enthält Erythrocyten und ihre Trümmer; kleine Anzahl von Granulo-

cyten. Bei der Eisenprobe nur ein Teil der Zelleibeinschlüsse blau gefärbt. Im Leib der Pulpareticulumzellen feine Fetttröpfchen. *Lymphknoten*: Sehr klein; stellenweise Reste der Knötchen; Pulpa besteht aus dicht aneinanderliegenden epitheloiden Zellen mit vacuolisiertem Protoplasma und blaß sich färbenden Kernen. *Leber*: Starke Blutüberfüllung; Leberzellen fein vacuolisiert; im Protoplasma der Kupfferschen und der Leberzellen gelbes Pigment. Eisenreaktion negativ. Nilblausulfat färbt dieses Pigment blau. *Lungen*: In den Alveolarsepten Wucherung der Histiocyten; ein Teil davon enthält feine Fetttröpfchen; im Lumen der Capillaren eine nach Sudan sich orange färbende homogene Masse. *Myokard*: Deutliche Erythrophagie; in einzelnen Fasern feine Fetttröpfchen. *Nieren*: Glomeruli mit Erythrocyten überfüllt; die Erythrocyten geben positive Fettfärbung. Epithel der gewundenen Kanälchen stark degeneriert; im Lumen der Kanälchen gequollene zusammengeklebte Erythrocyten. *Nebennieren*: Rinde lipoidreich. *Darmschleimhaut*: Wenig Histiocyten im subepithelialen Bindegewebe, teils mit sich eosinfärben Erythrocyten; zwischen den Drüsenepithelien kernlose Zellen mit großen eosinophilen Granula.

Wirkung des Benzols auf die roten Blutkörperchen.

Die anatomischen und histologischen Veränderungen, die von uns in den geschilderten Versuchen gefunden wurden, sowie die genaue Durchsicht des klinischen Bildes der gesamten Fälle erlauben uns, den Mechanismus der Benzolwirkung auf den tierischen Organismus ausführlich zu erforschen. Wie schon oben gesagt wurde, könnte man den klinischen Befunden nach eine beschleunigte Zerstörung und gleichzeitig eine beträchtliche Regeneration von Erythrocyten bei Benzoldarreichung vermuten. Diese Voraussetzung wird durch das Auftreten von pathologischen Erythrocytenformen und durch das Vorkommen einer bedeutenden Zahl von Normoblasten im peripheren Blute bei Benzolvergiftung bestätigt. Histologische Untersuchungen unterstützen diese Vermutung vollkommen. Fast in allen Niederschriften stoßen wir auf Angaben über reichliche Erythrophagie von seiten des reticulo-endothelialen Systems der verschiedenen Organe. Aus einzelnen Versuchen, in welchen verschiedene Methodik angewandt wurde, können wir entnehmen, daß nicht alle blutzerstörenden und -bildenden Organe gleichmäßig an der Erythrocytenmauserung teilnehmen. Die Zerstörung der Erythrocyten bei Meerschweinchen, bei denen das rote Blut fast keine Mengenveränderung während der Benzolvergiftung erleidet (s. Meerschweinchen 6 und 10), geht in der Milz, den Lymphknoten, den Kupfferschen Zellen, der Leber, den Lungenhistiocyten vor sich; die Erythropoese ist am deutlichsten in Knochenmark, Milz und Lymphknoten zu beobachten. Beim Kaninchen 2 sehen wir das fast gleichmäßig ausgeprägte Bild der Blutmauserung in Knochenmark, Milz und Lymphknoten, obgleich die früheren Stadien der Erythrocytenzerstörung mehr in der Milz zutage treten.

Kanichen 3 und 5 zeigen Erythropoese im Knochenmark und in der Schleimhaut des Wurmfortsatzes, während in der Milz keine Erythro-

blasten gefunden wurden; die Lymphknötchen waren sogar ganz verschwunden.

Peinliches Studium des mikroskopischen Bildes der Erythrophagocytose, der Art der Zerstörung der Erythrocyten und der Ausbildung von Pigmenten in den reticulo-endothelialen Zellen brachte uns zu folgender Auffassung obengenannter Veränderungen. Die Zerstörung der von den reticulo-endothelialen Zellen aufgenommenen Erythrocyten kann sich verschiedenartig abspielen, wahrscheinlich je nach der fermentativen Tätigkeit der Zellen. Unter bestimmten fermentativen Bedingungen kann die Zelle eine vollkommene Auflösung der von ihr aufgenommenen Erythrocyten bewerkstelligen, wonach durch Synthese aus den beim Auflösen der Erythrocyten im Protoplasma gebildeten Produkten von neuem ein allmählicher Wiederaufbau des Hämoglobins erzeugt wird.

Damit kann auch der Übergang einer Endothelzelle in einen Erythro- und Normoblasten verstanden werden. Unsere histologischen Untersuchungen der Erythrophagie und Erythropoese im Knochenmark, in der Milz und den anderen Organen, wobei wir das Vorhandensein von verschiedenen Übergangsformen vom Endothelien zum Erythroblast beobachten konnten, führen uns zu der Überzeugung, daß ein solcher Umwandlungsmechanismus der reticulo-endothelialen Zellen eine hervorragende Rolle in der Erythropoese spielen muß (s. Abb. 2). Eine zweite Möglichkeit der Zersetzung der Erythrocyten besteht darin, daß aus Hämoglobin erst Hämatin und weiter kolloidales Eisen und Hämatoidin sich bilden; das in dem alkalischen Gewebeesaft lösliche Hämatoidin diffundiert aus der Zelle; kolloidales Eisen kann dagegen entweder vom Zellprotoplasma in Form von sogenannten Hämosiderinkörnchen adsorbiert werden oder seinen kolloidalen Zustand weiter erhalten und im weiteren Verlauf der fermentativen Vorgänge in der Zelle zum Wiederaufbau von Hämoglobin verbraucht werden, d. h. die Umwandlung der reticulo-endothelialen Zellen zum Erythroblasten verursachen.

Der Umstand, daß wir bei der Ausführung der Eisenreaktion ein positives Ergebnis in den Zellen erhalten, in welchen bei gewöhnlicher Hämatoxylin-Eosin-Färbung große, den unveränderten Erythrocyten ähnliche Schollen liegen, und zwar auch dort, wo nur ein feinkörniges gelbbraunes Pigment im Protoplasma vorhanden ist, erklärt sich durch den Chemismus der Reaktion. Und wirklich, wenn wir auf je einen Schnitt, wo in den Zellen sich das Eisen in kolloidaler Form befindet, Salzsäure und Ferrocyanalkalilösung einwirken lassen, so spielt sich die Reaktion folgendermaßen ab: das anfangs im Protoplasma liegende kolloidale Eisen wird durch die Salzsäure ionisiert und erst dann kann das ionisierte Eisen die Berlinerblaureaktion geben. Diese Reaktion ist also mit Veränderungen des Zustandes, in dem sich das Eisen im Proto-

plasma der Zelle befand, verbunden und ist deswegen nicht geeignet, den physikalisch-chemischen Bau des in dem Gewebe vorhandenen Eisenkomplexes zu bestimmen. Wir führten stets die Berlinerblaureaktion nach 2 Verfahren aus: dem längeren und dem kürzeren. Bei dem ersten hielten wir die Schnitte in beiden Lösungen (HCl und FeK_4CN_6) zu je 24 Stunden, bei dem zweiten zu je 5 Minuten. Der Unterschied der erhaltenen Ergebnisse war sehr deutlich; bei dem kurzen Verfahren färben sich nur die kleinsten Körnchen des Pigments blau, während die großen Schollen ungefärbt bleiben oder sich grünlich färben, bei der längeren Modifikation bekamen wir von den gesamten Hämoglobin-abkömmlingen eine Färbung in dunkelblauem Ton.

In einzelnen Fällen (Kaninchen 6 und 7) fanden wir kein eisenhaltiges Pigment in den Zellen des Knochenmarks, der Leber und der Lungen; dagegen gaben diese gelblichen Körnchen positive Nilblausulfat- und teils auch Sudanfärbung. Wir konnten also von Lipofuscin sprechen.

Dieses Pigment ist nach *Hueck* als sogenanntes autogenes Pigment, das keinen Zusammenhang mit der gesteigerten Erythrocytenzerstörung hat, aufzufassen. Wir sind anderer Meinung. In unseren Benzolversuchen konnten wir eine stark beschleunigte Blutmauserung feststellen. Wenn wir dabei in einigen Fällen statt Hämatin und Hämosiderin nur Lipofuscin gefunden haben, so ist anzunehmen, daß die Bildung von Lipofuscin auch mit Zersetzung der Erythrocyten im Zusammenhang steht. Unsere Versuche mit einem anderen Blutgift — Phenylhydracin — zeigten uns, daß unter gewissen Bedingungen bei Verarbeitung roter Blutzellen ihre lipoide Membran im Protoplasma der Erythrophage zu liegen kommt; in einigen Fällen konnten wir im Zelleib lipoide Ringe sehen, in anderen waren nur noch feine lipoide Körnchen vorhanden. Aus den oben angeführten Niederschriften (Kaninchen 6 und 7) können wir ersehen, daß in diesen Fällen das Capillarblut, besonders in den Lungen, mit Sudan schon positive Fettfärbung gibt. Wir halten daher dieses auf Eisen negativ und auf Sudan und Nilblau positiv reagierende Pigment für Lipofuscin und sind der Ansicht, daß es als Produkt der Zersetzung der Erythrocyten zu betrachten ist. Sehr anziehend scheint uns die Frage, bei welchen Formen der Zerstörung von Erythrocyten die Regeneration derselben am besten vor sich gehen kann.

Beim Kaninchen 4 bekamen wir eine bedingte Blutarmut und bemerkten, daß in diesem Falle eine sehr bedeutende Hämosiderose der Organe vorhanden war, in den Fällen 3, 5 und 7 war dagegen die Hämosiderose nicht so ausgeprägt und das rote Blut dieser Tiere nahm bis zum Ende des Versuches nur wenig ab.

In den Fällen 6 und 7 von entmilzten Kaninchen bekamen wir verschiedene Bilder des roten Blutes. Während wir beim Kaninchen 6 am 19. Tage der Benzoleinführung nur 3500000 Erythrocyten hatten,

blieb beim Kaninchen 7 die Zahl der Erythrocyten fast unverändert. In beiden Fällen können wir die Bildung von Lipofuscin in fast allen Organen feststellen. Dieser Unterschied ist damit zu erklären, daß dem Kaninchen 6 eine Rippenresektion während der Zeit der Benzolvergiftung gemacht wurde. Vor der Operation wurden 5500000 Erythrocyten in 1 cmm bei diesem Tier gefunden, 2 Tage nach der Operation sank jedoch die Erythrocytenzahl bis zu 3500000. Das Ergebnis der Untersuchung der Ausstriche aus dem Knochenmark des resezierten Rippenstückes war oben angeführt.

Die Untersuchung unseres Materials erlaubt also 3 Typen festzustellen, nach denen die Erythrocytenzerstörung in den reticulo-endothelialen Zellen sich abspielen kann, wobei die weiteren Veränderungen der einzelnen Erythrocytenbestandteile und der reticulo-endothelialen Zellen verschiedener Art sein können: 1. Vollständige intracelluläre Hämolyse, Wiederaufbau des Hämoglobins, Umwandlung der Zelle in einen Erythroblasten; 2. Zersetzung des Hämoglobins in Hämosiderin und Hämatoidin; 3. Ausfallen der Lipoide der Erythrocytenmembran und Speicherung von Lipofuscin in der Zelle. Die Erythrophagie und die oben beschriebenen Phasen der Erythrocytenveränderung können als Gradmesser der Erythrocytenauflösung dienen. Vergleichen wir die mit Benzol behandelten und gesunden Tiere miteinander, so sehen wir, daß nur ein Gradunterschied besteht und die Benzolvergiftung den auch schon normalerweise in großer Masse vorhandenen Vorgang der Blutmauserung vielfach verstärkt.

Die Wechselbeziehungen zwischen dem Grade der während des Lebens beobachteten Anämie und dem histologischen Bilde der Erythrocytenzerstörung zeigen uns, welche Korrelation zwischen Erythrocytenzersetzung und Erythrocytenregeneration bestehen.

Um die Frage zu entscheiden, weshalb Benzol die Erythrocyten zerstört und gleichzeitig die Bedingungen für ihre rasche Neubildung erzeugt, haben wir Versuche *in vitro* angestellt. Wenn man einen Bluttropfen mit einem Benzoltropfen vermischt, so kann man unter dem Mikroskop sehen, daß kleinste Benzoltropfen sich an die Erythrocyten kleben; die Erythrocyten quellen erst auf, dann werden sie farblos und lösen sich endlich auf (Abb. 6). Wenn wir die durch Waschen vom Serum befreiten Erythrocyten mit Benzol in solchem Verhältnis mischen, daß grade noch keine Hämolyse stattfindet und danach etwas physiologische NaCl-Lösung hinzufügen und zentrifugieren, so kommt eine rasche Auflösung der Erythrocyten zustande.

Diese Erscheinung zeigt, daß das lipoidlösende Benzol eine entsprechende Veränderung in der Erythrocytenmembran auslöst; dadurch kommt eine rasche Hämolyse nach Einwirkung von physiologischer NaCl-Lösung zustande.

Es kann angenommen werden, daß solche Bedingungen auch bei der Einführung von Benzol in den tierischen Organismus zustande kommen; an den Erythrocyten sich adsorbierendes Benzol vermindert ihre Widerstandsfähigkeit gegen andere hämolytische Einflüsse; die Veränderung des physiko-chemischen Zustandes der Erythrocyten¹, wahrscheinlich auch die Veränderung ihrer elektrischen Ladung ruft eine verstärkte Erythrophagie von seitens des Reticulo-Endothels der verschiedenen Organe hervor; die Erythrocyten lösen sich leicht im Protoplasma der Erythrophagen auf und auf solche Art entstehen günstige Bedingungen für den vollständigen Wiederaufbau des Hämoglobins in den reticulo-endothelialen Zellen.

Wir stellten eine Reihe von Versuchen mit einem anderen hämolytischen Gifte an, nämlich mit Phenylhydracin, um die Abhängigkeit der Zerstörung und weiteren Veränderung der Erythrocyten von deren physikalisch-chemischen Eigenschaften aufzudecken. In vitro gibt Phenylhydracin ein ganz anderes Bild der Erythrocytenveränderung; in einem Tropfen der Mischung von Blut und Phenylhydracin sehen wir starkes Einschrumpfen der Erythrocyten, die als dicke, körnige Körperchen im Bildfelde erscheinen; lange Zeit ist keine Hämolysse zu beobachten, so daß man von einer eigenartigen Fixierung sprechen könnte (Abb. 7). Spritzen wir Kaninchen Phenylhydracin in Mengen von 0,05 und 0,1 (in physiol. Kochsalzlösung) ein, so bekamen wir eine rasch auftretende Anämie mit Erythrocytenzerstörung im Blutstrom, mit

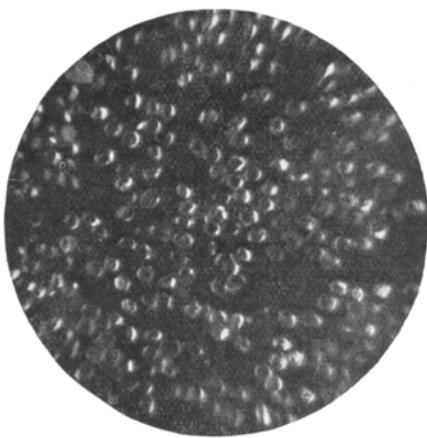


Abb. 6. Öl-Immersion. Kardioid-Kondensor Zeiss.

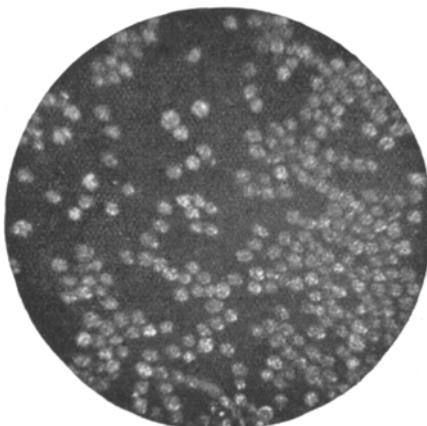


Abb. 7. Öl-Immersion. Kardioid-Kondensor Zeiss.

¹ Die Verminderung des Cholesteringehaltes der Erythrocyten kann die Ionenbewegung in denselben beschleunigen (Brinkmann und von Dam).

Hämoglobinämie und Hämaturie; in den Blutausstrichen sieht man viele Polychromatophile, Poikilocyten, Makro- und Mikrocyten. Die Blutregeneration ist schwach ausgeprägt; bei der histologischen Untersuchung finden wir Erythrophagie, Ausbildung des Lipoidpigment-Lipofuscin in den Reticulo-Endothelien und Parenchymzellen und Wucherung von Leukocyten. Erythroblasten sind nur in dem Knochenmark und dabei in geringem Ausmaße vorhanden.

Warum beobachten wir während des ersten Stadiums der Benzolvergiftung eine beschleunigte Erythropoese, hauptsächlich im Knochenmark und in der Milz, dann in dem Lymphknoten und endlich bei der schon auftretenden Verkümmерung dieser Organe, in der Schleimhaut der Verdauungsorgane, besonders des Wurmfortsatzes? Um eine solche Reihenfolge der Veränderung zu verstehen, ist es notwendig, die anatomischen und physiologischen Besonderheiten des Blutumlaufs und des Stoffwechsels in diesen Organen ins Auge zu fassen. Knochenmark und Milz sind am reichlichsten mit Blut, und deswegen auch mit den im Blute vorhanden gewesenen Produkten (in unserem Falle Benzol) versorgt; wenn im Organismus Bedingungen entstehen, welche den Stoffwechsel erhöhen (z. B. Entzündung), so reagieren in erster Linie Knochenmark und Milz darauf; in deren Gewebe können wir dann eine größere Intensität des Stoffwechsels als in den übrigen Organen feststellen (den Entzündungs-ort ausgeschlossen). Es ist daher verständlich, daß bei einer Vergiftung die höchste Konzentration der giftigen Stoffe und die raschere Lähmung der mesenchymalen Zellen im Knochenmark und in der Milz zu beobachten sind; die erythropoetische Funktion des Knochenmarks und der Milz erlischt daher bei der Benzoleinwirkung am frühesten.

Die Lymphknoten und die Schleimhäute haben ein schlechter ausgebildetes Blutgefäßsystem als das Knochenmark und die Milz; darum ist das Verbleiben der mit dem Blute gebrachten Produkte in ihnen nicht so anhaltend und wir können beobachten, daß in den Lymphknoten und den Schleimhäuten die Erythropoese noch stattfindet, wenn sie im Knochenmark und in der Milz schon aufgehört hat. Bei einer lange währenden Benzoleinwirkung kommt es zur Atrophie des lymphatischen Gewebes, so daß es makroskopisch kaum gelingt, einzelne Lymphknötchen aufzufinden.

Alles oben Angeführte erlaubt die Behauptung: *Benzol ist ein hämolytisches Gift, das die lipoide Erythrocytenmembran auflöst; dadurch geht die Hämolyse im Leib der rote Blutzellen aufnehmenden reticulo-endothelialen Zellen sowie der Wiederaufbau des Hämoglobins und die Neubildung von Erythrocyten leichter vorstatten.*

Die Wirkung des Benzols auf die Leukopoese.

Am wichtigsten für unser Thema ist die Frage über den Mechanismus der Entstehung der Leukopenie bei den mit Benzol vergifteten Tieren.

Unsere Versuche an Meerschweinchen widerlegen die Behauptung, daß Benzol die Leukocyten schon im peripheren Blute zerstört. Wenn Benzol nach seinen chemischen Eigenschaften eine Affinität zu den lipoiden Stoffen besitzt, so ist es nur natürlich, daß es sich im Blute nicht an den Leukocyten, sondern an den Erythrocyten adsorbiert, weil diese im Blute die große Mehrzahl der Blutkörperchen ausmachen.

Die am Orte der Benzoleinspritzung sich ausbildenden Nekrosen kann man als Ergebnis der Membranveränderung der örtlichen Zellen betrachten; dies verursacht ihre Zerstörung; das ins Blut eingetretene Benzol adsorbiert sich an den Erythrocyten, ruft aber keine Zerstörung derselben innerhalb der Gefäße hervor, was man am Fehlen von Hämoglobinämie sehen kann. Man könnte außerdem vermuten, daß das Benzol unmittelbar auf die blutbildenden Organe einwirkt und jene Zellen zerstört, welche als Stammzellen der Granulocyten betrachtet werden können.

Die Untersuchung des Knochenmarks zeigt, daß sich in ihm nach und nach eine Atrophie entwickelt; histologisch lassen sich aber keine Beweise für eine isolierte Schädigung der granulierten Zellen erbringen. In den Fällen mit starker Atrophie des Knochenmarks (bei den Kaninchen 4, 6 und 7) sehen wir fast nur ungeschädigte Endothelien, welche die Mehrzahl der Forscher für die Stammzellen aller Blutzellen halten.

Wir bekamen außerdem bei einem Teil der Kaninchen und bei allen Meerschweinchen bei Verminderung der Gesamtzahl aller Leukocyten eine Vergrößerung des prozentualen Gehaltes an Granulocyten, so daß in diesen Fällen von einer elektiven Wirkung des Benzols auf die Granulocyten keine Rede sein kann (s. Abb. 8 u. 9).

Um den Entstehungsmechanismus der Leukopenie bei den mit Benzol vergifteten Tieren zu verstehen, ist es notwendig, die Einheitslehre der Blutbildung anzunehmen, und zwar im Sinne bekannter deutscher Verfasser wie Siegmund, Möllendorf, Eppinger, Spielmeyer u. a.

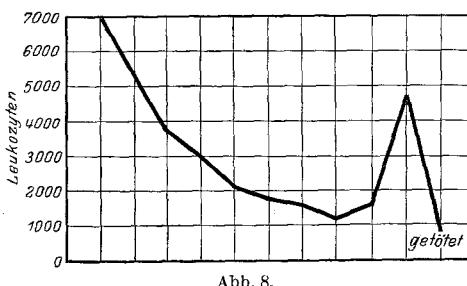


Abb. 8.

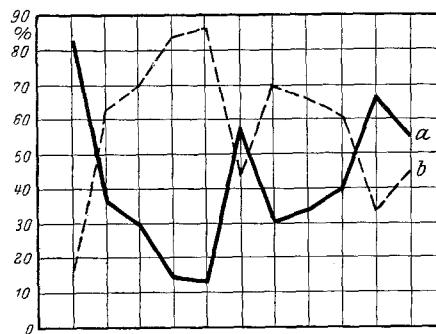


Abb. 9. a = Lymphohistiocyten; b = Pseudo-eosinophile Leukocyten.

Man muß wohl der Behauptung beistimmen, daß alle Zellen des peripheren Blutes, wie Granulo-, Lymphocyten und Erythroblasten, aus dem Reticulo-Endothel stammen, dessen Zellen wandeln sich infolge der Aufsaugung verschiedener Stoffe in Blutzellen um (*Siegmund, Möllendorf*). Die Zellen des peripheren Blutes sind demnach als Umbildungsformen der reticulo-endothelialen Zellen aufzufassen.

Von diesem Standpunkte aus ist es leicht zu verstehen, warum Benzolvergiftung eine Leukopenie hervorrufen kann.

Wenn Erythrophagie und nachfolgende intracelluläre Hämolyse bei Benzoleinwirkung zu einer Umwandlung der reticulo-endothelialen Zellen in proerythroblastische Formen führt, so ist es natürlicherweise zu erwarten, daß im Falle einer schwachen Wucherung der reticulo-endothelialen Zellen eine verminderte Bildung anderer Formen aus einem und demselben reticulo-endothelialen System stattfinden wird. Andererseits kann man die Schwankungen in der Zahl der Granulocyten und Lymphocyten im peripheren Blute mit verschiedenen Bedingungen des intermediären Stoffwechsels erklären. Die Abstammung der Granulo-, Lymphocyten und Erythroblasten von den reticulo-endothelialen Zellen bringen wir in Verbindung mit dem Vorgang der Erythrocytenzerstörung und der Umwandlung des Hämoglobins¹.

Nach unseren Tierversuchen und klinischen Beobachtungen bilden sich die neutrophilen Granulocyten aus den reticulo-endothelialen Zellen eines beliebigen Organs in solchen Fällen, wo die Erythrocytenzerstörung im Protoplasma der Erythrophagen mit der Entstehung von Hämosiderin und Hämatoidin oder auch von Lipofuscin einhergeht. Dabei verändert sich die reticulo-endothiale Zelle im morphologischen Sinne, ihr Kern wird segmentiert, im Protoplasma häufen sich neutrophile Granula an.

In der Frage der Abstammung der Lymphocyten stimmen wir der Ansicht von *Ehrlich* und *Negreiros-Rinaldi* bei, die als primäres Stadium der Erythro- und Lymphopoese die Plasmazelle betrachteten. Die aus den reticulo-endothelialen Zellen sich bildenden Plasmazellen oder Proerythroblasten (als Folge der Hämoglobinsynthese) können sich nach weiteren fermentativen Vorgängen in der Zelle in Normoblasten-Erythrocyten oder Lymphocyten umwandeln.

Unsere Benzolversuche bestätigen diesen Standpunkt, denn die Zellen, welche wir auf den vorangehenden Seiten Proerythroblasten nannten, zeigen keine morphologischen Unterschiede im Vergleich mit den Plasmazellen. Im Gegenteil, wenn wir alle Töne des Übergangs

¹ Die von uns entwickelte Theorie der Blutbildung als Wechselbeziehung zwischen den reticulo-endothelialen Zellen und den im Laufe des intermediären Stoffwechsels verschiedenartig veränderten Erythrocyten war im Jahre 1927 in russischer Sprache veröffentlicht worden (s. Schrifttum).

von Plasmazellen in Normoblasten studieren, wird uns ihre formale Abhängigkeit klar. Neben den erythrophagocytierenden Zellen beobachten wir Zellen, in deren Leibplasma sich durch Eosin rosa färbende Schollen liegen; ihr Kern hat eine radförmige Gestalt; weiter sehen wir noch Zellen mit einem exzentrischen Radkern und kleinen Vakuolen im Protoplasma; wir begleiten schließlich noch typischen Normo- oder Megaloblasten. Wenn wir die eben beschriebenen Formen im Lumen eines und desselben Milzsinus oder in der Knötchenaußenzone oder in der Pulpa eines Lymphknotens beobachten, so sind wir berechtigt in diesen morphologischen Befunden den Ausdruck fermentativer Tätigkeit der Zelle, der „Verdauung“ des Hämoglobins und der Umwandlung der Zelle in einen Normoblast zu sehen.

Diese Tatsachen erlauben festzustellen, warum in einigen von unseren Versuchen eine Verminderung der Granulocytenzahl, in den anderen eine Verminderung der Lymphocytenzahl stattfindet, und in der dritten schließlich sich eine gleichzeitige Anämie entwickelt. Alle Blutzellen erscheinen im Blute als Ergebnis entsprechender Veränderungen der reticulo-endothelialen Zellen im Laufe des intermediären Stoffwechsels, und es ist demnach verständlich, daß eine einseitige und dabei starke Umwandlung der reticulo-endothelialen Zellen bloß in eine Art den Gehalt an anderen Abkömmlingen des reticulo-endothelialen Systems in den Organen und also auch in dem Blut vermindern muß.

Das in den Organismus eingeführte Benzol beschleunigt die Erythrophagie und Ausbildung der erythroblastischen Formen, und darum vermindert sich gleichzeitig die Umwandlung der reticulo-endothelialen Zellen in Leukocyten. Die proliferative Fähigkeit der mesenchymalen Zellen hängt von der Stärke des Zellstoffwechsels, besonders des Wasseraumsatzes ab, denn die Quellung der Zellkoloide und die Verminderung der Oberflächenspannung sind notwendige Vorbedingungen für das Zustandekommen der Zellteilung. In dieser Hinsicht sind die erythroblastischen Formen inaktiv, weil sie nicht die Eigenschaft besitzen, ihre Oberfläche zu verändern, zu quellen und zu phagocytieren; in diesen Zellen spielen sich hauptsächlich synthetische Vorgänge der Hämoglobinbildung ab. Somit erscheint die starke Ausbildung der erythroblastischen Formen in den Geweben als eine die Wucherungseigenschaften des Mesenchyms verzögernde Bedingung.

Wie schon oben gesagt wurde, bilden sich die Lymphocyten aus den Proerythroblasten (Plasmazellen); diese können nach ihren fermentativen Eigenschaften entweder eine ganze Reihe von Veränderungen bis zu Erythrocyten durchmachen oder sich in Lymphocyten umwandeln. Daher wird die Leukopenie, welche durch einseitige erythropoetische Funktion der reticulo-endothelialen Zellen entsteht, von einer starken verhältnismäßigen Vergrößerung der Zahl der Lymphocyten im peri-

pheren Blut begleitet. Solch ein Bild haben wir in den Versuchen mit den Kaninchen 3, 6 und 9 erhalten, wobei die 2 ersten Tiere nur mit Benzol und das Kaninchen 9 vorerst mit einer 1% igen Kongorotlösung behandelt worden waren. Nach unseren Angaben adsorbiert sich das Kongorot teilweise an den Erythrocyten, wodurch erklärt werden kann, warum die vorangehende Einführung dieser Farbe einerseits das Auftreten der Benzolleukopenie verzögert (Schutzkolloid) und andererseits den Grad der Leukopenie erhöht.

In den Fällen, wo außer Benzol noch andere Einwirkungen auf den Organismus der Tiere (wie Trypanblau, Pferdeserum, Entmilzung) Anwendung fanden, unterschied sich das Bild des peripheren Blutes sehr stark von demselben in „reinen“ Versuchen. So waren bei dem Kaninchen 2 auf der Höhe der Leukopenie (bis zu 1000 Leukocyten) noch 30% Pseudoeosinophile anzutreffen, beim Kaninchen 4 mit einer Leukopenie bis zu 800 Leukocyten (in 1 cmm) 45% Granulocyten, bei 8 84% degenerierter Granulocyten und bei 174% Granulocyten. Womit können wir solche Wirkungen der Zusatzfaktoren erklären? Wir glauben, daß diese Erscheinungen durch den Einfluß verschiedener Einwirkungen auf die Eigenschaften der reticulo-endothelialen Zellen erklärt werden können. Wiederholt vorgenommene Einspritzungen von normalem Pferdeserum rufen bei den Vergleichstieren Granulocytose und eine starke Hämosiderinablagerung in den reticulo-endothelialen Zellen hervor. Auf Grund der Arbeiten von *Sbarski* und *Lintwarew* wissen wir, daß die Eiweißabkömmlinge sich an den Erythrocyten adsorbieren; wenn dabei ein Teil der Aminosäuren adsorbierenden Erythrocyten denaturiert wurde (wie bei Phenylhydrazin), so kann Erythropagie und nachfolgende Erythrocytenzerstörung andere Ergebnisse zeitigen, namentlich eine Umbildung von reticulo-endothelialen Zellen in Granulocyten. Das sich im Protoplasma der reticulo-endothelialen Zellen speichernde Trypanblau erzeugt zweifellose Veränderungen der Wucherungs- und fermentativen Eigenschaften der Zellen, und wir bekommen daher in den reticulo-endothelialen Zellen einen anderen Umwandlungstypus als bei der bloßen Einwirkung von Benzol.

Aus allem, was wir anführten, können wir den Schluß ziehen, daß die Ausbildung aller Blutzellen eine Funktion der reticulo-endothelialen Zellen ist. Wenn wir ihre Lebensbedingungen verändern, können wir ihre Umwandlungen nach verschiedenen Seiten hin beeinflussen, so daß wir also eine bedingte Granulocytose, oder Lymphocytose, eine genügende Erythropoese oder Anämie erhalten können.

Starke degenerative Veränderungen der reticulo-endothelialen Zellen, selbst unter der Einwirkung von Benzol, beobachteten wir bei dem Kaninchen 1, das infolge einer Nachgeburtssinfektion verendet war. In der Milz haben wir hier eine vollständige Abwesenheit lymphoider Zellen,

stark verfettete kernlose große epithelioide Zellen und einzelne Inseln von Erythroblasten gefunden.

*Die Ursache der verschiedenartigen Wirkung des Benzols
auf Meerschweinchen und Kaninchen.*

Warum gelang es uns in keinem Falle bei Meerschweinchen eine bedeutende Leukopenie sogar mit großen Benzolgaben zu erreichen, während Kaninchen auf Benzol mit einer starken Leukopenie reagierten?

Die Erklärung dieser Tatsache muß in den verschiedenen Eigenschaften der Organismen dieser 2 Tierarten gesucht werden und hauptsächlich in der Verschiedenheit ihres intermediären Stoffwechsels. Das reticulo-endotheliale System des Meerschweinchens besitzt eine große Fähigkeit zu Wucherungsvorgängen, beim Kaninchen ist diese Eigenschaft bedeutend weniger ausgeprägt. Zum Beweis eines solchen Unterschieds kann man folgende Erwägungen anführen: 1. das normale Blut der Meerschweinchen enthält mehr Leukozyten als das der Kaninchen; bei jenen haben wir eine Durchschnittszahl von 10—20 Tausend in 1 cmm, bei diesen 5—12 Tausend; 2. das Meerschweinchen kann man als klassisches Objekt für Anaphylaxieversuche betrachten, das Sensibilisieren der Kaninchen gelingt dagegen viel schwerer. Nach den Angaben von *Domagk* und unseren eigenen Versuchen wird die Anaphylaxie von einer Wucherung der reticulo-endothelialen Zellen an verschiedenen Orten des Organismus von einer beschleunigten phagozytären Leistung, einer Störung des Stoffwechsels in der Richtung einer Acidose und von Wasserspeicherung in den Zellen begleitet. Daraus kann man erwarten, daß dasjenige Tier, dessen reticulo-endotheliale Zellen eine bedeutende Hinfälligkeit besitzen und zu starker Wucherung neigen, unter bestimmten Bedingungen leichter einen anaphylaktischen Shock erleidet, als ein Tier mit weniger ausgeprägter Wucherungsfähigkeit der Zellen. Dieselben Eigenschaften erklären uns auch das verschiedene Verhalten der Meerschweinchen und Kaninchen gegenüber der Benzoleinwirkung. Die durch Benzol verursachte Beschleunigung der Erythropoiese führt beim Kaninchen hauptsächlich zu einer Verstärkung der synthetischen Vorgänge, d. h. zur Umwandlung der reticulo-endothelialen Zellen in erythroblastische Formen, während beim Meerschweinchen gleichzeitig eine merkliche Verstärkung der Zellwucherung vor sich geht. Wir erhalten also bei diesen außer einer vollständigen Regeneration des roten Blutes noch eine Vergrößerung der gesamten Leukozytenzahl und später eine langsame und schwache Verminderung derselben. Die Einverleibung größerer Benzolmengen, um die Erythropoese so zu verstärken, daß die Leukozytenzahl einer größeren Verminderung unterworfen wird, ist unmöglich, weil das Tier

unter degenerativen Erscheinungen in den parenchymatösen Organen zugrunde geht. Das Meerschweinchen 6, welches Benzol mit Hammelblutkörperchen bekam und unter Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks starb, zeigte vor dem Tode eine Erweiterung der Leukocytenzahl von 11—14 Tausend, und zwar zugunsten der Neutro- und Eosinophilien. Hier war also die das Reticulo-Endothel zur Wucherung anregende Wirkung des fremden Proteins stärker als der Einfluß des Benzols.

In diesen Tatsachen, die sich mit unseren Versuchen decken und die Bedeutung der Organisation des Tieres für den Charakter der Blutveränderung nach der Gifteinwirkung bestätigen, können wir eine gewisse Analogie zu den klinischen Beobachtungen finden.

So rufen die akuten Infektionen bei Säuglingen am häufigsten eine Leukocytose, selbst unter dem Bilde der akuten Leukämie hervor, und die Leukocytenzahl kann bis zu 40—60 Tausend im cmm ansteigen. Bei Erwachsenen sind die akuten Leukämien viel seltener; wir finden bei ihnen dagegen im Verlaufe von septischen Erkrankungen nicht selten eine relative Leukopenie, in einzelnen Fällen auch eine Agranulocytose.

Wenn wir den Grad und die Labilität des Stoffwechsels bei Säuglingen und die damit verbundene Neigung der Zellen zu Wucherungsvorgängen in Betracht ziehen, so wird uns der Einfluß des Alters- und Konstitutionsbedingungen auf den Typus der Blutveränderungen während einer Infektion bei verschiedenen Individuen begreiflicher.

Die Wirkung des Benzols auf die parenchymatösen Organe.

Von großer Bedeutung sind die in den parenchymatösen Organen sich unter Benzoleinwirkung entwickelnden Veränderungen. Alle oben angeführten Versuchsniederschriften weisen darauf hin, daß in der Leber in allen Fällen eine bedeutende Zellverfettung stattfindet; dabei zeigt uns der Vergleich der mit Hämatoxylineosin und der mit Sudan gefärbten Präparate, daß auch die kleinen gelblichen in den Leberzellen liegenden Pigmentkörnchen eine positive Fettfärbung aufweisen. Die nach Giemsa gefärbten Schnitte aus der Leber der Meerschweinchen 5 und 6 stellen ein lehrreiches Bild dar: in den Leberzellen mit dem stark-körnigen Protoplasma finden sich blaß-rosafarbige Gebilde, die stellenweise eine unregelmäßige, eckige, an die gequollenen roten Blutkörperchen erinnernde Form besitzen; mit Sudan färben sich diese Gebilde in das für die Fetttröpfchen charakteristische Rot.

Die Zellen der inneren Nebennierenzone zeigen in einzelnen Fällen eine gut ausgesprochene Erythropagie; dabei liegen in manchen Zellen große Erythrocyten von fast gewöhnlichem Aussehen, in anderen — Erythrocytenträümmer. Die Fettreaktion ist positiv, die Eisenreaktion dagegen negativ. In den Epithelzellen des Wurmfortsatzes kann man die

Erythrophagie auch beobachten; ein Teil der Zellen bekommt eine diffuse grünlichgelbe Farbe, und manche Zellen verlieren ihren Kern. In einigen Fällen hatte das Protoplasma des Pankreasepithels stark ausgeprägte eosinophile Granula; die größten von diesen Granula waren ihrem Aussehen nach den Erythrocyten ähnlich. Die histologische Untersuchung des Myokards ergab schließlich in einem Teil der Fälle (Kaninchen 3, 5, 6) das Bild der Erythrophagie durch die Muskelfasern: blaß gefärbte Erythrocyten liegen neben den Kernen im Sarcolemma, und man kann um die aufgenommenen Erythrocyten herum einen hellen, einer Vakuole ähnlichen Raum erblicken; die Muskelfasern haben ein buntes Ausschen: das blaß sich färbende Gewebe entspricht den Erythrophagieanteilen; wo keine Erythrocyten in den Fasern vorhanden sind, färben sich die Myofibrillen dunkler (Tigerherz).

Wir fühlen uns daher berechtigt, zu behaupten, daß bei der Benzolvergiftung der Tiere die Erythrophagie nicht nur durch die mesenchymalen Zellen, sondern auch durch die Parenchymzellen, wie Drüsenepithel, Leberzellen, Nebennierenzellen und die Muskelfasern des Myokards, bewerkstelligt werden kann. Überall, wo in den Zellen gespeicherte Erythrocyten sichtbar sind, zeigt das Gewebe degenerative Veränderungen. So verliert das Darmdrüseneipithel seine Kerne, die Leberzellen und Myokardfibrillen sind im Zustande der trüben Schwellung, die Nebennieren verändern ihre färberischen Eigenschaften.

Theoretisch erklären wir die Degeneration der Zellen unter dem Einflusse der Erythrophagie aus physikalisch-chemischen Bedingungen, die aus der gesteigerten Zellfunktion sich ergeben; die parenchymatösen Teile besitzen wahrscheinlich ein schwaches Spaltungsvermögen und können die von ihnen aufgenommenen Erythrocyten nur unter Bildung von sauren hochmolekulären Abkömmlingen zerlegen; der Mangel der Parenchymzellen an oxydierenden Fermenten ruft die Unmöglichkeit einer fortlaufenden Oxydierung und Spaltung dieser Produkte hervor; nach *J. Loeb's* Angaben hängt die Zellautolyse nach dem Tode des Organismus von der Anhäufung saurer Stoffe im Protoplasma und von der ungenügenden oxydierenden Funktion der Zellen ab. Daher kommen in den Parenchymzellen bei reichlicher Anhäufung von Eiweißspaltprodukten autolytische Vorgänge vor, deren frühere Stadien in Protoplasmaquellung und Veränderung der Zellstruktur bestehen. Die degenerativen und nekrotischen Zellveränderungen erscheinen somit als Ergebnis bestimmter Formen der intermediären Stoffwechselstörung. Unsere Ergebnisse bestätigen *Lubarsch-Hintzes* und *Rössles* Ansicht, nach welcher bei der Erythrocytenzerstörung in den Epithelzellen und in den glatten Muskelfasern kein Hämosiderin, sondern ein eisenfreies lipoides Pigment gebildet wird. Wir müssen jedoch hinzufügen, daß eine solche Erythrocytenzerstörung mit der Bildung eines dem Lipo-

fuscin gleichen Pigments in den mesenchymalen Zellen, bei bestimmten Bedingungen ihrer fermentativen Tätigkeit, einhergehen kann. Die von uns beobachteten histologischen Bilder sprechen außerdem auch dafür, daß die durch die Zellen aufgenommenen und in den Capillaren liegenden Erythrocyten unter dem Einfluß des Benzols direkt die positive Lipoidfärbung geben können (s. die Niederschriften der Kaninchen 8 und 9).

Wann tritt während der Benzolvergiftung eine sichtbare Erythropagie in den Parenchymzellen auf?

Nach unseren Versuchen ist dieser Zeitpunkt mit einer Lähmung der Funktion der aktiven Mesenchymzellen verbunden. Bei längere Zeit währender Benzoleinwirkung kommt es bei Kaninchen zu einer reichlichen Umwandlung der monocytoiden, endothelialen und histiocytären Zellen verschiedener Organe in Erythroblasten; die letzteren sind aber keine aktiven Zellformen, denn ihnen fehlt die Eigenschaft, die Oberflächenspannung ihres Protoplasmas zu verändern und zu phagocytieren. Die lange währende Benzoleinverleibung mit der damit verbundenen reichlichen Erythrocytenzerstörung führt dazu, daß nach fast vollständiger Ausnutzung der aktiven Mesenchymzellen die Parenchymzellen anfangen, die Erythrocyten in großen Mengen aufzunehmen, was zu degenerativen Veränderungen in den Parenchymzellen führt. Bei Meerschweinchen sehen wir nach der Benzoleinwirkung eine stark ausgesprochene Wucherung der reticulo-endothelialen Zellen; der Tod tritt bei ihnen meistens plötzlich ein, und wir sind der Meinung, daß es bei diesen Tieren zu einer Veränderung des intermediären Stoffwechsels, namentlich zu Wasserspeicherung in den Zellen, CO_2 -Anhäufung und Verminderung der Oxydationsvorgänge kommt.

Auf Grund der oben angeführten Tatsachen und Erwägungen stellen wir uns den Mechanismus der Benzolwirkung auf den Tierorganismus folgendermaßen vor: das unter die Haut eingeführte Benzol löst die Lipoidmembran der Zellen auf und verursacht deshalb Nekrosen an dem Orte der Einspritzung; sowie das Benzol ins Blut übergeht, wird es von der Erythrocytenmembran adsorbiert; dadurch werden diese Erythrocyten leichter durch die reticulo-endothelialen Zellen aufgenommen und lösen sich innerhalb der Zellen auf; die Verarbeitung der Erythrocyten durch das Protoplasma der reticulo-endothelialen Zellen vollzieht sich also vorwiegend in der Richtung einer vollständigen Auflösung und nachfolgenden Wiederaufbaues auf dem Wege der Ausbildung von primären erythropoetischen Formen bzw. Proerythroblasten.

Wegen der stark ausgeprägten Regeneration verändert sich das rote Blut wenig; die Bildung von Leukocyten vermindert sich allmählich, weil die Leukocyten aus denselben reticulo-endothelialen Zellen entstehen, die mit erythropoetischer Funktion vollauf beschäftigt sind.

Die morphologisch den Plasmazellen ähnlichen Proerythroblasten wandeln sich allmählich in Erythro- oder Lymphocyten um, was von dem weiteren Verlauf des Hämoglobinwiederaufbaues abhängt. Davon überzeugen uns die morphologischen Untersuchungen des Knochenmarkes und des Blutes; während der Benzolvergiftung können wir in diesen die verschiedenen Übergangsformen vom Erythroblasten bis zum Lymphocyt sehen. Das peripherie Blutbild der mit Benzol gespritzten Kaninchen mit nur kleiner Veränderung der Erythrocytenzahl und starkem Vorherrschen der Lymphocyten wird somit begreiflich. Wenn die Zerstörung und die weiteren Veränderungen des Hämoglobins der von Zellen aufgenommenen Erythrocyten vom Ausfallen von Hämosiderin oder Lipofuscin im Zellprotoplasma begleitet werden, so vermindert sich die Bildung von Proerythroblasten und damit auch die Bildung von Erythro- und Lymphocyten zugunsten der Umwandlung der reticulo-endothelialen Zellen in Granulocyten. Daher sehen wir bei Kaninchen eine bedeutende Herabsetzung der Erythrocyten- und Hämoglobin Zahl (Kaninchen 4 und 6).

Die Versuche mit Phenylhydrazinvergiftung der Kaninchen bestätigen die Abhängigkeit des Blutbildes von dem Typus der Erythrocytenverarbeitung. Bei der Anwendung dieses Giftes beobachten wir eine schnell sich entwickelnde Blutarmut, während die Zahl der Leukozyten und besonders die der Granulocyten auf hohen Werten stehen blieb (bis zu 10—12000 im Kubikmillimeter mit 50% Granulocyten). Die histologische Untersuchung der Organe durch Phenylhydrazin vergifteter Kaninchen zeigte Erythrophagie und Ausbildung von Lipoidpigment in den reticulo-endothelialen Zellen bei negativer Eisenreaktion.

Der Tod der mit Benzol vergifteten Tiere wird durch eine akute Störung des intermediären Stoffwechsels und durch die damit verbundene Degeneration der Parenchymzellen bedingt.

Wir können nicht umhin, den Umstand zu betonen, daß das Bild der durch eine akute Benzolvergiftung hervorgerufenen Organveränderungen dem klinischen und histologischen Bild der sog. Agranulocytose sehr ähnlich ist. Das erlaubt uns anzunehmen, daß die Erforschung des Mechanismus der Benzolwirkung zur Aufklärung der Ursachen und Entstehungsweise der septischen agranulocytären Erkrankungen beitragen könnte.

Was endlich die therapeutische Benzolanwendung anbetrifft, so können wir aus unserer Arbeit folgende Schlüsse ziehen: 1. die Warnung vieler Forscher, bei der Leukämiebehandlung mit Benzol keine starke Verminderung der Leukocytenzahl anzustreben, ist leicht zu begreifen; wir haben tatsächlich gesehen, daß die durch Benzol verursachte Leukopenie auf eine Funktionslähmung der reticulo-endothelialen Zellen und auf die Gefahr des Überganges ihrer Funktion an die Parenchym-

zellen hinweist; 2. von unserem Standpunkt aus ist das Benzol in kleinen Mengen zur Anämiebehandlung geeignet; 3. bei leukämischen Erkrankungen wirkt das Benzol nur symptomatisch, denn es verändert den Stoffwechsel und die Blutbildung und wirkt also antagonistisch dem unbekannten Faktor gegenüber, der eine entgegengesetzte Veränderung der Funktion der reticulo-endothelialen Zellen, d. h. eine Verstärkung ihrer Wucherung hervorruft.

Als diese Arbeit schon beendet war, habe ich den äußerst lehrreichen Aufsatz von *Lignac* (Krankheitsforschung 1928, Heft 2) gelesen. Die Ergebnisse dieses Verfassers stimmen mit meiner Ansicht in bezug auf Benzolwirkung auf die Erythrocyten überein; *Lignac* hat auch einen beschleunigten Erythrocytenzerfall, eine stark ausgesprochene Erythropoese (in der Milz) und eine Ablagerung von zwei verschiedenen Pigmenten bei chronischer Benzolvergiftung der Mäuse gefunden.

Literaturverzeichnis.

- Selling*, Beitr. path. Anat. **51** (1911). — *Sklavunos*, Krkh.forschg **1** (1925). — *Hirschfeld*, Handbuch der Krankheiten des Blutes usw., herausgegeben von Prof. Schittenhelm. — *Rotter*, Virchows Arch. **258** (1925). — *Westphal*, Verh. dtsch. path. Ges. **1923**. — *Hueck*, Beitr. path. Anat. **1912**. — *Oberzimmer* und *Wacker*, Virchows Arch. **249**. — *Sieg mund*, Klin. Wschr. **1922**, Nr 52. — *Domagk*, Verh. dtsch. path. Ges. **1925**. — *Nikolajew*, Intermediärer Stoffwechsel und Blutbildung. Russ. Monographie 1927.
-