

(Aus der inneren Abteilung des DRK.-Augusta-Hospitals in Berlin.
[Chefarzt: Prof. Dr. med. et phil. *R. Enger*.])

Zur Frage des erythrocytären Entkernungsvorganges und seines Zusammenhanges mit dem Auftreten und Wiederverschwinden der reticulo-filamentären Substanz.

Untersuchungen an supravitalgefärbtem Knochenmark.

Von

Hans Kinkel und Walter Hofer.

Mit 33 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 1. März 1940.)

In der morphologischen Erforschung des erythrocytären Reifungsvorganges haben die Methoden der supravitalen Färbung schon vielfache Anwendung erfahren, da mit ihnen in kernhaltigen und kernlosen Erythrocyten körnige und fäden-netzige Strukturen nachgewiesen werden können, die als Ausdruck der mehr oder weniger weit entwickelten Reife der sie enthaltenden Zellen erkannt sind. Es ist wiederholt versucht worden, die Fülle der verschiedenartigen Erscheinungsformen dieser reticulo-filamentären Substanz in einer einheitlichen, den Vorgang der erythrocytären Reifung veranschaulichenden Formel zusammenzufassen — einer *morphologischen* Reifungsreihe, in der die einzelnen vitalgranulären kernhaltigen und kernlosen Zellformen in der vermuteten entwicklungsmäßigen Aufeinanderfolge angeordnet sind. Es wurde dabei die Meinung vertreten, daß sämtliche Elemente der normocytären und megalocytären Erythropoese den darin wiedergegebenen Formwandel in grundsätzlich übereinstimmender Weise durchmachten.

Wir sind nun durch eigenes Studium an supravitalgefärbtem Knochenmark zu der Auffassung gekommen, daß der erythrocytäre Reifungsvorgang sich nicht in so einfacher und ausschließlicher Weise abspiele, wie zumeist angenommen wird. In der vorliegenden Arbeit werden unsere Untersuchungsergebnisse zusammengefaßt.

Material und Methode.

Wir untersuchten normales und krankhaft verändertes menschliches Knochenmark (Kinder und Erwachsene), das durch intravitale Sternumpunktion gewonnen wurde: normales Knochenmark in 33 Fällen; Knochenmark von sekundären, mikro-, normo- und makrocytären Anämien verschiedener Entstehung und Schwere in 41 Fällen; Knochenmark von kryptogenetischen perniziösen Anämien in 37 Fällen.

Die Färbung und weitere Verarbeitung des dem Markraum entnommenen Substrates wurde folgendermaßen vorgenommen:

Wir vermischten die Markflüssigkeit sofort nach ihrer Entnahme mit derselben Menge einer 1% isotonischen Brillantkresylblaulösung von 37° ohne irgendwelche gerinnungshemmende Zusätze in einem oder mehreren Uhrtöpfchen, die alsbald in eine vorher und nachher im Wärmeschrank stehende feuchte Kammer gebracht wurden. Die mikroskopische Untersuchung wurde unmittelbar nach Herstellung des Knochenmark-Farbstoffgemisches begonnen und über ungefähr 1--2 Stunden durchgeführt; bei längerer Färbedauer sahen wir nicht selten Strukturschädigungen auftreten. Wir untersuchten unter Anwendung von Ölimmersionssystemen ausschließlich Feuchtpräparate, d. h. die Aufschwemmung der Knochenmarkzellen in der isotonischen Farblösung selbst. Wir setzten auf einen sorgfältig gereinigten Objektträger einen kleinen Tropfen des Knochenmark-Farbstoffgemisches und bedeckten denselben mit einem dünnen Deckglas so, daß er sich in feinster Schicht gleichmäßig ausbreitete; bei richtiger Arbeitsweise befinden sich die mehr oder weniger weit auseinanderliegenden Zellen nach kurzer Zeit schon in vollkommener Ruhe.

Die unverkennbaren Vorteile dieser einfachen Methode liegen in der schonenden Behandlung der Zellen durch Aufschwemmen und Verharrenlassen in körperwarmem isotonischem Milieu, wodurch Strukturänderungen und Zerstörungsvorgänge, die Ausstrichverfahren und Austrocknung an den überaus leicht verletzlichen und rasch zugrundegehenden erythrocytären Frühformen hervorrufen, vermieden werden. Eine zusätzliche Färbung mit irgendwelchen anderen Farben ist nicht erforderlich, da das verwendete Brillantkresylblau reticulo-filamentäre Substanz *und* Kern darstellt.

Die Abbildungen in dieser Arbeit wurden nach Mikrophotogrammen unter ergänzender Verwertung von schriftlichen und skizzenhaften Vermerkungen gezeichnet; sie wurden aus einer Fülle ähnlicher oder gleichartiger Zellformen ausgewählt, stellen also in keinem Falle nur Einzelbeobachtungen dar.

Ergebnisse.

Wir versuchten bei unseren Untersuchungen die beiden dem Vorgange der erythrocytären Reifung eigentümlichen Erscheinungen des Kernverlustes einerseits und des Auftretens und Wiederverschwindens der reticulo-filamentären Substanz andererseits in ihren gegenseitigen morphologischen Zusammenhängen zu sehen. Wir konnten dabei zunächst *zwei* voneinander gut abgrenzbare Entwicklungsabläufe erkennen, die auch in der Art des Zellmaterials, an dem sie sich abspielen, sich wesentlich unterscheiden — einen ersten Reifungsmodus, in dem der Entkernungsvorgang *vor* der vollkommenen intraplasmatischen Auflösung der reticulo-filamentären Substanz beendet ist, und einen zweiten, in dem der Zellkern erst einige Zeit *nach* dem völligen Aufgehen der Vitalgranulation im Plasmakörper verschwindet.

I.

Wir sahen den ersten Reifungsmodus in zwei verschiedenen Formen ablaufen, die sich am eindeutigsten durch das Verhalten des Kerns kennzeichnen lassen:

1. *Reifung mit volliger intraplasmatischer Kernauflösung*, die entweder
 - a) unter *allmählichem* Kernaufbrauch als Ausdruck eines normalgeschwinden Reifungsvorganges vor sich geht, oder
 - b) unter *raschem* Kernzerfall als Erscheinung einer beschleunigten Zellreifung abläuft.
2. *Reifung mit unvollständiger intraplasmatischer Kernauflösung*, die unter *Ausstoßung* des mehr oder weniger veränderten *Kerns* aus dem Zellkörper als Zeichen einer überstürzten Entwicklung erfolgt.

1. Reifungsvorgänge mit volliger intraplasmatischer Kernauflösung.

a) *Reifung unter allmählichem Kernaufbrauch.*

An den Anfang dieser Reifungsreihe ist eine Zelle zu setzen, die in der Aufschwemmung der supravitalgefärbten Knochenmarkselemente als rundes, zart grünbläuliches Gebilde mit zentral liegendem, wenig strukturiertem und verhältnismäßig großem Kern von violetter Färbung gefunden werden kann; irgendwelche vitalgranulären Strukturen sind im



Abb. 1.



Abb. 2.



Abb. 3.

Plasmakörper nicht nachweisbar (Abb. 1). In diesen Zellen müssen die ersten sich nicht mehr teilenden Erythronormoblasten erblickt werden; sie sind, da sie einem sehr wahrscheinlich nur kurzdauernden Entwicklungsstadium angehören, in meist nur geringer Anzahl vorhanden.

Die nächstfolgende Reifungsphase wird durch einen Zelltyp vertreten, der eben unter der Kernoberfläche gelegene oder derselben unmittelbar aufliegende körnige Elemente von tief dunkelblauer Farbe erkennen lässt. Diese zunächst noch spärlichen Gebilde treten in der weiteren Entwicklung in immer größerer Menge auf, wobei sie zu fädig-netzartigen Verbindungen weitmaschig zusammenfließen; an einzelnen Stellen des Kernrandes beginnen dieselben auch schon ein wenig in den Plasmaraum vorzudringen (Abb. 2 und 3, 3 in Aufsicht auf die Kernoberfläche). Es sind in diesen Strukturen erste Erscheinungen der eigentlichen Vitalgranulation gegeben. Der Zellkern zeigt in dieser Entwicklungsphase schon fleckweise Aufhellungen.

Im weiteren Fortschreiten der Reifung vermehrt sich die reticulofilamentäre Substanz stark. Sie sammelt sich zunächst in Form eines

dichten Netzes ringartig, oder richtiger kugelschalenartig um den inzwischen noch mehr aufgelichteten, am Rande stellenweise wie angedaut anmutenden Kern (Abb. 4). Es ist danach ausgezeichnet zu verfolgen, wie dieses zunächst auf unmittelbare Kernnähe beschränkte Netz sich auflockert und sich weitmaschig im ganzen Plasmakörper ausbreitet. Der Kern zeigt in dieser Entwicklungsphase noch weitergehende Veränderungen: er ist merklich verkleinert, die Kernoberfläche erscheint



Abb. 4.



Abb. 5.



Abb. 6.

in ganzer Ausdehnung in verschiedenen starkem Ausmaß wie angefressen und auch das Kerninnere von Einschmelzungsherden durchsetzt; in seiner Farbe ist eine zarte rotviolette Tönung aufgetreten, die sich von der tiefblauen Farbe der vitalgranulären Elemente wohl absetzt (Abb. 5).

Es scheint, daß im weiteren Entwicklungsverlauf dieser vielfach unterhöhlte Kern in sich zusammenbricht und daß die Kerntrümmer einer raschen Auflösung unterliegen: schon während dieses Vorganges verringert sich die im Plasmaraum vorhandene Menge an reticulo-filamentärer Substanz immer mehr (Abb. 6 und 7). Es entstehen so schließlich Zellformen, die nur noch vereinzelte netzgärdige oder körnige supravital-färbbare Elemente enthalten (Abb. 8); solche Blutkörperchen vermögen unter normalen Verhältnissen schon in die periphere Strombahn überzutreten und verlieren dann da ihre letzten vitalgranulären Reste.

Der soeben geschilderte Entwicklungsvorgang wurde vornehmlich im Knochenmark von Kindern und Erwachsenen mit normalen Blutverhältnissen gefunden; es ist anzunehmen, daß es sich dabei um den normalen Reifungsmodus handelt.

b) Reifung unter raschem Kernzerfall.

Als eine Abart des normalen Entwicklungsvorganges kann die Reifung mit raschem intrazellulärem Kernzerfall angesehen werden. Dieser



Abb. 7.

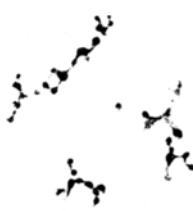


Abb. 8.

Verlauf nimmt seinen Ausgang von derselben Zelle, die auch die Reifung unter allmählichem Kernaufbrauch einleitet. Es kommt in der Folgezeit aber nicht zu der Ausbildung eines aus reticulo-filamentärer Substanz bestehenden Ringnetzes um einen von mehr oder weniger großen und zahlreichen Einschmelzungshöhlen durchsetzten Kern, der dabei als eine morphologische Einheit noch längere Zeit einigermaßen erhalten bleibt — es hat vielmehr eine rasche Abscheidung des vitalgranulären Substrates oder wenigstens seines nucleären Anteiles aus der ganzen übrigen Kernmasse statt, die mit diesem Vorgang zugleich zerbröckelt und zerfällt. Es entsteht dabei eine kompakte, in der Zellmitte gelegene Ansammlung kleiner Kernbestandteile, die von vitalfärbbaren Elementen verschiedener Form durchsetzt und umlagert wird (Abb. 9).



Abb. 9.

Im Verlaufe der weiteren Entwicklung lockert sich dieses Gebilde durch Auflösung der in ihm enthaltenen Kernanteile und durch Ausbreitung der vitalgranulären Elemente im Plasmakörper immer mehr auf (Abb. 10), wobei netzartige Strukturgefüge entstehen, die mit zunehmender Zellreife durch eine fortschreitende Auflösung von Verbindungsfäden immer



Abb. 10.



Abb. 11.



Abb. 12.

weitmaschiger werden und schließlich auseinanderfallen (Abb. 11 und 12); die dabei sich schließlich ausbildenden Zellformen entsprechen im wesentlichen den Endstadien des normalen Entwicklungsvorganges.

Wir sahen diesen Reifungsmodus vorwiegend im kräftig regenerierenden Knochenmark sekundärer Anämien, sowie im Mark perniziöser Anämien in späteren Remissionsstadien; es muß angenommen werden, daß er Ausdruck einer beschleunigten, nicht eigentlich krankhaften Entwicklung ist.

2. Reifungsvorgänge mit unvollständiger intraplasmatischer Kernauflösung überstürzte Reifung mit Kernausstoßung.

An den Anfang dieser Reifungsreihe muß wiederum dieselbe Zelle gesetzt werden, von der auch die zuvor beschriebenen Entwicklungsvorgänge ausgegangen waren: eine Zelle mit großem und wenig struktu-

riertem Kern, der zentral in einem von vitalgranulären Elementen freien Plasmaraum liegt. Im Verlaufe der nun einsetzenden Reifung rückt dieser Kern unter unregelmäßiger Auflichtung seiner Masse an den Rand des ihn umschließenden Plasmakörpers; die in zunächst ähnlicher Lage-
rung wie zu Anfang der normalen Entwicklungsvorgänge aufgetretene und dann stark vermehrte reticulo-filamentäre Substanz sammelt sich während dieser Kernwanderung an der der Zellmitte zugewandten Kernhälfte an, wo sie derselben sichelförmig oder richtiger kapuzenartig aufsitzt (Abb. 13). Nun verläßt der Kern, der sozusagen dem um ihn in Bildung begriffenen vitalgranulären Ringnetz entschlüpft ist, unter starker Volumverminderung den Plasmaraum, in dem er eine dichte Anhäufung reticulo-filamentärer Substanz zurückläßt (Abb. 14 und 15). Im letzten Abschnitt der Aus-
stoßungsphase schließt sich die in der Zellober-
fläche entstandene Austrittslücke wieder und der zuletzt in nur noch loser Verbindung mit dem Zellkörper stehende, inzwischen noch weiter verkleinerte Kern löst sich ab; schon während dieses Vorganges hat die Auflösung der reticulo-filamentären Substanz eingesetzt (Abb. 16), ihre Reste gehen rasch im Plasmakörper auf.



Abb. 13.



Abb. 14.



Abb. 15.



Abb. 16.

Der soeben geschilderte Entwicklungsmodus wurde im Knochenmark von schwersten sekundären Anämien — insbesondere in Verbindung mit akuten leukämischen Zuständen — sowie im ersten Remissionsstadium perniziöser Anämien kurz nach Einsetzen einer wirksamen Lebertherapie gefunden. Es ist wahrscheinlich, daß es sich dabei nicht allein um eine überstürzte Reifung schlechthin handelt, wodurch starke Erythrocytenverluste rasch ausgeglichen werden, sondern auch um einen Vorgang, der in Zusammenhang mit einem möglicherweise toxisch veränderten Zellstoffwechsel an sich krankhaft verläuft; es könnte angenommen werden, daß der Plasmakörper den seines supravitalfärbbaren Substrates verlustig gegangenen Restkern nicht mehr zu verwerten vermag und nun durch Ausstoßung desselben einen reifeähnlichen Zustand zu erlangen sucht.

II.

Die Veranschaulichung des zweiten Reifungsmodus ist insofern etwas schwieriger als die demselben unterliegenden erythrocytären Elemente von wechselnder Gestalt und Größe sind; eine aus so verschiedenartigen Zellformen aufgestellte Reifungsreihe scheint der natürlichen Einheitlichkeit zuermangeln. Nun erlauben die üblichen morphologischen Methoden nicht, die Entwicklung einer einzelnen Zelle in allen ihren Reifungsphasen zu verfolgen; es wird immer nur möglich sein, aus einer gegebenen Vielzahl einzelner Erscheinungsformen einen Entwicklungsablauf durch möglichst



Abb. 17.



Abb. 18.



Abb. 19.

ungezwungene Zusammenfassung und Anordnung der verschiedenen Zelltypen als wahrrscheinlichsten abzuleiten.

An den Anfang dieser Reifungsreihe ist eine Zellform zu setzen, die in der Aufschwemmung der supravital gefärbten Knochenmarkszellen als rundes, verhältnismäßig großes Gebilde mit zentralem, netzartig strukturiertem Kern von dunkelblauvioletter Farbe in Erscheinung tritt;



Abb. 20.



Abb. 21.



Abb. 22.

vitalgranuläre Elemente sind in dem lichten grünlichblauen Plasma nicht vorhanden (Abb. 17). Es handelt sich bei diesen Zellformen um aus der letzten Teilung der Stammzellen hervorgegangene Megaloblasten.

Es scheint, daß der weitere Entwicklungsvorgang dieser megalocytären Elemente zunächst in ähnlicher Weise abläuft, wie die ersten normocytären Reifungsphasen: es entstehen Zellformen, die in unmittelbarer Lagerung um einen verkleinerten und gröbergezeichneten Kern eine dichte Ansammlung reticulo-filamentärer Substanz enthalten: solche

Zellen, die auch meist ein dem normalen Erythrocyten gegenüber ganz andersartiges Verhältnis von Plasmakörper- und Kerngröße besitzen, zeigen sehr oft schon Abweichungen von der einfachen runden Form (Abb. 18 und 19). Im Fortschreiten der Reifung erfolgt dann, dem Vorgang der normocytären Entwicklung ähnlich, eine Ausbreitung des vitalgranulären Ringnetzes im ganzen Plasmakörper (Abb. 20 und 32).

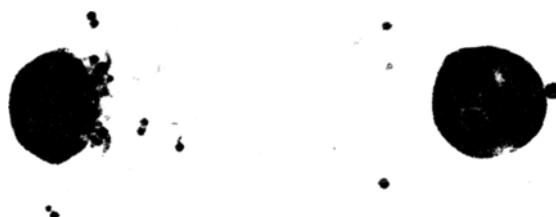


Abb. 23.

Abb. 24.

Von diesem Entwicklungsstadium an scheint die weitere megalocytäre Reifung nun 2 Wege einzuschlagen zu können: der eine erfolgt über Kernzerfall und -auflösung zugleich mit dem allmählichen Verschwinden der reticulo-filamentären Substanz, wobei zunächst ähnliche vitalgranuläre Innenstrukturen entstehen, wie im Verlaufe der normocytären Entwicklung (Abb. 21); diese zerbröckeln später in eigentlich grob-körnige oder klumpige Elemente ungleichen Aussehens, die mitunter in



Abb. 25.

Abb. 26.

Abb. 27.

großen Mengen im Plasma verteilt sind (Abb. 22) — der andere Weg ist durch vorläufiges Weiterbestehen des Kerns als morphologische Einheit ausgezeichnet: es zerfällt nämlich die reticulo-filamentäre Substanz in der eben geschilderten grobscholligen Form (Abb. 23, 24 und 33) und wird zuletzt gelöst vollkommen im Plasmakörper aufgenommen. Es entstehen so Zellformen, die in einem von vitalgranulären Elementen freien Plasmakörper einen dunkel-blauvioletten, annähernd runden Kern besitzen; in der Nähe der Kernoberfläche liegen mit auffallender Konstanz ein oder zwei kleine runde Körner von rotvioletter Farbe (Abb. 25).

In der weiteren Entwicklung treten nun mehr oder weniger große und zahlreiche Aufhellungsbezirke am Kernrand und im Kerninnern auf — Einschmelzungshöhlen, die den endlichen Kernuntergang einleiten (Abb. 26 und 27): derselbe erfolgt durch Zerfall des Kerns in sich und



Abb. 28.



Abb. 29.

restliche Auflösung der dabei entstandenen klumpig-kugeligen Kerntrümmer (Abb. 28 und 29). Mitunter scheint aber der Kernhülle eine



Abb. 30.



Abb. 31.

eigentümliche Resistenz eigen zu sein, so daß trotz weitgehender innerer Verflüssigung der Kern zunächst nicht in sich zusammenfällt, sondern



Abb. 32.



Abb. 33.

als stark vakuolig aufgelichtetes, zartblaues rundes Gebilde weiter besteht (Abb. 32 und 33).

Das Vorhandensein von mehreren Kernen mitunter verschiedener Größe ist in megalocytären Zellelementen nichts ungewöhnliches (Abb. 32 und 33). Es kann mittels

supravitaler Färbemethoden aber nicht entschieden werden, ob diese Zellen ihre Entstehung einer den Plasmakörper nicht einbeziehenden förmlichen Kernteilung verdanken oder ob dabei einfache Kerndurchschnürungen und -abschnürungen vorliegen. Was die reticulo-filamentäre Substanz angeht, sind wesentliche Abweichungen in ihrem Auftreten und Wiederverschwinden mit dieser Erscheinung nicht verbunden.

Wir sahen diesen Reifungsvorgang ausschließlich in schwersten und schweren Fällen unbehandelter perniziöser Anämie. Neben anderen Formbesonderheiten müssen insbesondere die älteren kernhaltigen vitalgranulationsfreien Zellformen als allein der megalocytären Erythropoese eigentümliche Erscheinungen angesehen werden. Es wird nun allgemein angenommen, daß die Veränderungen in Blut und Knochenmark der perniziösen Anämie in engstem Zusammenhang mit Reifungsstörungen entstehen; diese Annahme erhält durch die geschilderten Untersuchungsergebnisse eine weitere morphologische Stütze: sie sind nicht allein im Sinne einer Reifungsverlangsamung zu verstehen, sondern zeigen vor allem auch eine auffällige Veränderung in der den anderen erythrocytären Entwicklungsabläufen gemeinsamen zeitlichen Koordination der Vorgänge des Kernverlustes einerseits und des Auftretens und Wiederverschwindens der reticulo-filamentären Substanz andererseits. Es ändert sich dieses dissozierte Verhalten in dem Augenblick, in dem durch Zufuhr der entsprechenden Reifungsprinzipien die megalocytäre Erythropoese normoeytär wird; die dabei durchlaufenen Phasen sind die einer zunächst überstürzten, danach beschleunigten und endlich normal-geschwinden Reifung, die sich morphologisch in Kernausstoßung, raschem Kernzerfall und allmählicher Kernauflösung äußern — in Entkernungsvorgängen, die sämtliche vor dem restlosen Verschwinden der Vitalgranulation beendet sind.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus unseren Untersuchungsergebnissen an supravitalgefärbtem menschlichem Knochenmark ist zu erkennen, daß der erythrocytäre Reifungsvorgang in 2 verschiedenen Weisen ablaufen kann: der eine Entwicklungsmodus umfaßt die Entkernungsvorgänge, die vor der restlichen Auflösung der reticulo-filamentären Substanz beendet sind: die Vorgänge der Kernauflösung und des Kernzerfalls als Erscheinungen einer allmählichen und einer raschen Entwicklung, sowie den Vorgang der Kernausstoßung als Zeichen einer überstürzten Reifung — der andere, ein Ausdruck verzögerter und dissoziierter Reifungsvorgänge im Zellinnern, ist durch Persistenz eines Restkerns über den Zeitpunkt des völligen Verschwindens der Vitalgranulation hinaus ausgezeichnet. In ihrem Vorkommen zeigen diese Entwicklungsmodi einen wichtigen Unterschied: der erste ist vornehmlich im normalen, sowie im normoeytären Knochenmark sekundärer Anämien nachweisbar — der zweite ausschließlich im megalocytären Mark der schwersten und schweren Formen perniziöser Anämie. Es ist

sicher, daß in den Remissionsstadien perniziös-anämischer Zustände beide Reifungsvorgänge nebeneinander ablaufen können — das spricht keineswegs gegen ihre scharfe morphologische Abtrennung.

Diese Untersuchungsergebnisse stehen nun in ihrer Verschiedenartigkeit im allgemeinen und im einzelnen den Angaben anderer mit supravitalen Färbemethoden arbeitenden Autoren widerspruchsvoll gegenüber. So wird von *Seyfarth, Jürgens* u. a. im wesentlichen nur *ein* in der normocytären und megalocytären Erythropoese in übereinstimmender Weise sich abspielender Reifungsvorgang angenommen, der unter allmählicher, vor dem restlosen Verschwinden der reticulo-filamentären Substanz beendeten Kernauflösung verlaufen würde.

Dabei sollten die anfänglich im ganzen Plasmaraum vorhandenen vitalgranulären Elemente im ersten Entwicklungsabschnitt stets ringartig um den sich immer mehr verkleinernden Kern gelagert sein und dabei schließlich, zum Zeitpunkt des Verschwindens der letzten Kernbestandteile, zu einem kompakten, zentral liegenden Gebilde zusammenschrumpfen; dieses würde in der Folgezeit, aufgelockert und körnig zerfallen, sich im Plasmakörper verteilen und endlich vollständig in ihm aufgehen. Es liegt dieser Reifungsreihe ein Zellmaterial von anämischem und nicht anämischem Blut und Knochenmark zugrunde.

Wir sahen bei unseren Untersuchungen nun Zellformen, die in dieser Reifungsreihe nicht erscheinen und in sie auch nicht eingeordnet werden können; dazu gehören vor allem die Kernaustrittsbilder, die in der Regelmäßigkeit ihres Auftretens bei gewissen anämischen Zuständen niemals künstliche Erzeugnisse sein können (entgegen *Naegeli*), sowie die älteren kernhaltigen vitalgranulationsfreien Zellformen, die eine Eigentümlichkeit der megalocytären Erythropoese sind. Es ist vollkommen unmöglich, diese und andere erythrocytäre Frühformen in einer einzigen Reifungsreihe zusammenzufassen. Es müssen darum mehrere Verlaufsstufen der erythrocytären Reifung angenommen werden. In der vorliegenden Aufstellung ist nicht allein die Verschiedenartigkeit der normocytären und megalocytären Erythropoese wiedergegeben; es sind darin auch die wechselnden Reifungsgeschwindigkeiten ausgedrückt, wie sie nach dem Vorkommen der einzelnen Zellformen vermutet werden müssen.

Es ist sicher, daß die Art des methodischen Vorgehens für die Erfassung verschiedener Zelltypen von wesentlicher Bedeutung ist. *Seyfarth, Jürgens* u. a. arbeiteten zumeist mit Feuchtkammer-Ausstrichpräparaten, die in der üblichen Weise angefertigt und nicht selten nachgefärbt wurden. Auf Grund einer ziemlich eingehenden Kenntnis der zur Retikulocytenfärbung zahlreich angegebenen Vorschriften meinen wir insbesondere die Ausstrichverfahren als ungeeignet zu exakten morphologischen Studien ablehnen zu müssen, da auch unter sorgfältigster Ausführung derselben manches vergröbert und zerstört, auch einiges gar nicht dargestellt wird. Als ursächlich für dieses Verhalten müssen im wesentlichen die mitunter unzureichenden Färbebedingungen und der Austrocknungsvorgang angesehen werden.

In Zusammenhang mit der Erforschung des erythrocytären Reifungsvorganges ist nun auch die Herkunft der reticulo-filamentären Substanz schon wiederholt untersucht worden. Es wurden dabei 2 Auffassungen

meist schroff einander gegenübergestellt: die eine sieht in den vitalfärbbaren Strukturen rein plasmogene Erscheinungen, die sehr wahrscheinlich dem vermuteten, im weiteren Entwicklungsverlauf allmählich verlorengehenden Spongioplasma der ursprünglichen Blutzelle entsprächen — die andere erblickt in ihnen rein karyogene Erzeugnisse, die möglicherweise in Zusammenhang mit dem erythrocytären Entkernungsvorgang entstünden. Die meisten an vitalgranulären Erythrocyten arbeitenden Untersucher haben der Auffassung einer plasmatischen Zugehörigkeit der reticulo-filamentären Substanz zugestimmt (*Biondi, Césaris-Demel, Brückner, Daum, Gavrilow, Pappenheim, Sabrazès, Schilling, Seyfarth, Trachtenberg u. a.*); weit seltener ist die Annahme einer nucleären Abstammung derselben vertreten worden (*Arrigoni, Koch u. a.*). Vereinzelt wurde auch die Möglichkeit erwogen, es könnten am Aufbau der reticulo-filamentären Substanz neben den dieselbe vorwiegend zusammensetzenden Plasmabestandteilen auch Kernstoffe mitbeteiligt sein (*Seyfarth*).

Es ist wiederholt versucht worden, die genetische Zugehörigkeit der Vitalgranulation aus Vergleichen des tinktoriellen Verhaltens der reticulo-filamentären Substanz einerseits und des Plasmakörpers und Kerns andererseits zu erschließen. Es war unverkennbar das Fehlen von vollkommen übereinstimmenden Farbreaktionen, das die Vorstellung einer karyogenen Natur der Vitalgranulation ablehnen ließ (*Pappenheim*, sowie *Seyfarth, Voit und Däiser*, die mit der von *Feulgen* und *Rosserbek* angegebenen, auf dem Nachweis einer Thymonukleinsäure beruhenden Nuclealfärbung arbeiteten). Einer solchen Ausdeutung mikrochemischer Untersuchungsergebnisse steht allerdings ein schwerwiegender Einwand entgegen: es ist nämlich ganz sicher, daß im Verlaufe des erythrocytären Reifungsvorganges eine Aufnahme von Kernabkömmlingen in den Plasmakörper statthat; es ist nun durchaus möglich, daß diese Stoffe, sie sehr wohl wesentlich am Aufbau der reticulo-filamentären Substanz mitbeteiligt sein könnten, dabei chemisch-strukturellen Umwandlungen unterworfen werden, die ihre färberischen Eigenschaften weitgehend verändern dürften. Die Annahme einer karyogenen Abstammung der vitalfärbbaren Strukturen kann demnach durch die Tatsache, daß in denselben mehr oder weniger spezifische Kernstoffe nicht nachweisbar sind, nicht als widerlegt angesehen werden.

Weit sicherer, als eine mikrochemische Arbeitsweise es zuläßt, erlaubt das Studium der Lagebeziehungen zwischen reticulo-filamentärer Substanz einerseits und Plasmakörper und Kern andererseits auf die plasmatische oder nucleäre Natur der Vitalgranulation rückzuschließen, wobei allerdings die einzelnen Zellformen in ihrem Entwicklungsmäßigen Zusammenhang gesehen werden müssen. Eine solche morphologisch-genetische Betrachtungsweise der in der vorliegenden Arbeit aufgestellten Reifungsreihen läßt nun folgendes Verhalten erkennen: die aus der letzten

Teilung der normocytären und megalocytären Stammzellen hervor-gehenden kernhaltigen Zellen sind zunächst noch vollkommen vital-granulationsfrei. Im Reifungsvorgang unter allmählicher Kernauflösung treten erste supravitallärbare Elemente an der Kernoberfläche oder unmittelbar darunter als körnige Einlagerungen auf, die rasch zu einem weitmaschigen, den Kern eng umschließenden Netz zusammenfließen. In der Folgezeit vermehrt sich die reticulo-filamentäre Substanz stark: sie sammelt sich zuerst in Form eines dichten Ringnetzes in nächster Kernnähe an und dringt dann, sich auflockernd, allmählich in den Plasmakörper ein. Am Kern selber haben sich unterdessen weitgehende Auflösungs- und Abbauvorgänge abgespielt, die schließlich von einem Zerfall der restlichen Kernmasse gefolgt sind. Im Reifungsvorgang mit raschem Kernzerfall erfolgt die Abscheidung der supravitallärbaren Elemente in der ganzen, dabei zerbröckelnden Kernmasse auf einmal.

Diese Entwicklungsvorgänge lassen unseres Erachtens einwandfrei die — zum mindesten anteilweise — *nucleäre* Abstammung der Vital-granulation erkennen, wobei allerdings weniger an ursprüngliche Kernsubstanz als solche gedacht wird, als vielmehr an Stoffe, die bei der Auflösung oder dem Zerfall des Kerns entstehen und in den Plasmakörper übergehen. Es ist durchaus wahrscheinlich, daß am Aufbau und an der Zusammensetzung der reticulo-filamentären Substanz auch plasmatische Elemente mitbeteiligt sind; es kann mit der angewandten Untersuchungsmethode aber nicht entschieden werden, welche Anteile des Blutzellproto-plasmas dabei vorliegen dürften. Das Auftreten von kernhaltigen vital-granulationsfreien Zellformen in den späteren Stadien des megalocytären Reifungsvorganges spricht natürlich ebensowenig, wie das Vorkommen von Kernausstoßungen gegen die Auffassung einer karyogenen Natur der reticulo-filamentären Substanz, da es sich dabei um substanzverminderte, durch Auflösungs- und Abbauvorgänge schon stark veränderte Kerne handelt.

Zusammenfassung.

Es wurden die erythrocytären Reifungsvorgänge im supravitallärbten Knochenmark von anämischen und nicht-anämischen Kindern und Erwachsenen untersucht. Dabei wurden zwei wesentlich verschiedene Entwicklungsabläufe festgestellt: im einen wird der Entkernungsvorgang vor dem endlichen Wiederverschwinden der reticulo-filamentären Substanz beendet — im anderen erfolgt der Kernverlust erst *nach* Auflösung der letzten vitalgranulären Elemente; der erste wurde vornehmlich im normocytären Knochenmark von gesunden und sekundär-anämischen Individuen gefunden: er geht in den Formen der Reifung unter allmählicher Kernauflösung und raschem Kernzerfall, sowie in einer überstürzten Form unter Kernausstoßung vor sich — der zweite wurde ausschließlich im megalocytären Mark von perniziös-anämischen Zuständen gesehen;

es ist wahrscheinlich, daß in ihm Reifungsstörungen zum Ausdruck kommen.

Die Frage der karyogenen oder plasmogenen Natur der reticulo-filamentären Substanz wird auf Grund der morphologischen Eigenschaften der in den Reifungsreihen zusammengefaßten Zellformen dahingehend beantwortet, daß neben einem möglichen plasmatischen Anteil am Aufbau und an der Zusammensetzung der Vitalgranulation ein *karyogenes* Substrat sicher mitbeteiligt ist.

Schrifttum.

- Arrigoni, C.*: Fol. haemat. (Lpz.) **6**, 444 (1908). — *Askanazy, M.*: In Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, herausgeg. von *Henke-Lubarsch*, Bd. 1/2. Berlin: Julius Springer 1927. — *Biondi, C.*: Fol. haemat. (Lpz.) **5**, 443 (1908); **6**, 205 (1908). — *Brückner*: Arch. f. Hyg. **98**, 95 (1927); **99**, 236 (1928). — *Césaris-Demel, A.*: Fol. haemat. (Lpz.) **4**, 1 (1907). — *Virchows Arch.* **195**, 1 (1909). — *Daum, H.*: Fol. haemat. (Lpz.) **53**, 1 (1935). — *Gauerlow, R.*: Fol. haemat. (Lpz.) **38**, 216 (1929). — *Hirschfeld, H. u. A. Hittmair*: Handbuch der allgemeinen Hämatologie. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1934. — *Koch, W.*: *Virchows Arch.* **252** (1924). — *Naegele, O.*: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Berlin: Julius Springer 1931. — *Pappenheim, A.*: Fol. haemat. (Lpz.) **7**, 11 (1909); **9** (1910). — Morphologische Hämatologie. Leipzig 1919. — *Sabrazès, J.*: Fol. haemat. (Lpz.) **9**, 103 (1910). — Arch. Mal. Coeur **16**, 408 (1923). — *Sabrazès, J. u. L. Muratet*: Fol. haemat. (Lpz.) **6**, 167 (1908). — *Schilling, V.*: Fol. haemat. (Lpz.) **14**, 194 (1912). — *Virchows Arch.* **234**, 548 (1921). — *Schilling, V. u. Torgau*: Fol. haemat. (Lpz.) **11**, 327 (1911). — *Schulzen, H.*: Lehrbuch der klinischen Hämatologie. Leipzig: Georg Thieme 1939. — *Seyfarth, C.*: Dtsch. med. Wschr. **1923** I, 180. — *Klin. Wschr.* **1927** I, 487. — *Fol. haemat.* (Lpz.) **34**, 7 (1927). — *Seyfarth, C. u. R. Jürgens*: *Virchows Arch.* **266**, 676 (1927). — *Trachtenberg, F.*: Fol. haemat. (Lpz.) **46**, 1 (1931). — *Voit, K. u. K. W. Daiser*: *Klin. Wschr.* **1936** II, 1646.