

(Aus der Inneren Abteilung des DRK. Augusta-Hospitals in Berlin [Prof. Dr. med. et phil. R. Enger] und aus der Universitäts-Kinderklinik der Charité in Berlin [Prof. Dr. med. G. Bessau].)

## Zur Morphologie der embryonalen Erythropoese der Säugetiere.

### Ergebnisse supravitaler Färbung.

Von

Hans Kinkel, Walter Hofer und Gertrud Kinkel-Diercks.

Mit 19 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 26. September 1940.)

Das Studium der embryonalen Erythropoese der Säugetiere hat die merkwürdige Erscheinung der Aufeinanderfolge zweier verschiedenartiger erythropoetischer Vorgänge erkennen lassen: die Ablösung einer primären, in den ersten Abschnitten der embryonalen Entwicklung statthabenden *megalozytären* Erythropoese durch eine sekundäre, im weiteren embryonalen Wachstumsprozeß dann als einzige noch vorhandene *normozytäre* Erythropoese.

Zahlreiche Formelemente dieser früh- und spätembryonalen Blutbildungsvorgänge sind mit einer Reihe ihrer morphologischen Eigentümlichkeiten wie Zellgröße, Strukturbesonderheiten von Plasmakörper und Kern beschrieben worden. Es wurden bei diesen Untersuchungen zumeist die üblichen, an der fixierten Zelle erfolgenden Färbungen angewandt (*Ehrlich*, *Naegeli*, *Pappenheim*, *Knoll*, *Pinay*, *Doan* u. a.); nur vereinzelt wurden supravitale Färbemethoden zugezogen (*Seyfarth* und *Jürgens*).

Es ist nun wiederholt versucht worden, die in der einen und anderen Weise darstellbaren verschiedenartigen Zellformen nicht allein in ihrer außerordentlichen Fülle an sich zu erfassen, vielmehr dieselben auch in ihrem entwicklungsmäßigen Zusammenhange zu sehen. Eine solche formal-genetische Betrachtungsweise führte zu der Aufstellung morphologischer Reifungsreihen, in denen die einzelnen Elemente der megalozytären und normozytären Erythropoese nach ihrem vermutlichen Entwicklungsalter angeordnet sind. Die Ergebnisse derartiger, an einem fixiertgefärbten Zellmaterial erfolgter reihenmäßiger Zusammenfassungen können im wesentlichen als sicher erwiesen angesehen werden — ähnliche, an einem supravitalgefärbten Zellmaterial vorgenommene Versuche überzeugen indessen kaum: dies liegt vornehmlich an einer ersichtlich unzureichenden Erfassung aller wirklich vorhandenen vitalgranulären kernhaltigen und kernlosen, megalonormoblastischen und megalonormozytären Zellformen, was natürlich von weitgehendem Einfluß auf das Aussehen der daraus abgeleiteten Entwicklungsreihen sein muß.

In der vorliegenden Arbeit werden die Ausreifungsvorgänge der früh- und spätembryonalen Erythropoese mittels supravitaler Färbemethoden erneut untersucht.

### Material und Methode.

Es wurden insgesamt 152 Embryonen aus 39 schwangeren weißen Mäusen untersucht.

In der nachstehenden Tabelle ist das verarbeitete Material nach Entwicklungsalter und einigen diesbezüglichen Zahlenverhältnissen übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle I.

Alter der Embryonen Länge in mm	Zahl der		M:N	Alter der Embryonen Länge in mm	Zahl der		M:N
	Em- bryonen	Mutter- tiere			Em- bryonen	Mutter- tiere	
4	13	3	100/0	14	8	2	12,88
5	14	4	100/0	15	10	3	9,91
6	7	2	97/3	16	4	1	7,93
7	5	1	93/7	18	14	3	2,98
8	12	3	90/10	19	2	1	0/100
10	11	3	79/21	21	3	1	0/100
11	9	2	37/63	22	5	1	0/100
12	18	4	24/76	24	2	1	0/100
13	15	4	21/79				

In der Verarbeitung des Untersuchungsmateriales wurde im einzelnen folgendermaßen vorgegangen:

Die Embryonen wurden zunächst nacheinander aus dem den Muttertieren im ganzen entnommenen Uterus mit Eihäuten und Placenta gelöst; sodann wurde eine Aufhängungsunterbindung zwischen Eihäuten und Placenta und, nach Zurückziehung der vorsichtig aufgeschlitzten Eihäute über den Embryo eine Nabelschnurunterbindung gelegt; danach wurden die Embryonen wiederholt in physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Zur Blutgewinnung wurden den zuvor abgetupften Embryonen die Köpfe abgeschnitten und das aus den Halsgefäßen fließende oder stehende Blut in einem oder mehreren Uhrsälchen aufgenommen.

Zur Färbung wurde eine 1%ige isotonische Brillantkresylblaulösung verwendet, die dem Embryonenblut unmittelbar nach seiner Entnahme in etwa entsprechender Menge zugesetzt wurde; anschließend kamen die Uhrsälchen in feuchte Kammern.

Die Auswertung des so vorbereiteten Materiales wurde ausschließlich an Feuchtpräparaten vorgenommen, d. h. die Zellen wurden in ihrer Aufschwemmungsflüssigkeit unmittelbar untersucht; dazu wurde ein kleines Tröpfchen des Blut-Farbstoffgemisches auf einen sorgfältig gereinigten Objektträger aufgetragen und unter einem dünnen Deckglas ohne zusätzliche Druckenwendung zur Ausbreitung in feinsten Schicht veranlaßt. Zur mikroskopischen Durchsicht wurden vorwiegend Ölimmersionssysteme benützt.

Eine ausreichende Färbung von Kern und reticulo-filamentärer Substanz ist schon wenige Minuten nach Herstellung des Blut-Farbstoffgemisches entwickelt; die Zellen sind bei richtiger Arbeitsweise ausgezeichnet erhalten. Es tritt nun aber mitunter nach einiger Zeit im Plasmakörper der einzelnen Zellen eine metachromatische Tropfenbildung auf; diese Erscheinung, die wohl als Ausdruck einer Farbstoffschädigung verstanden werden muß, kann durch Zusatz einer geringsten Menge

von 1,25% säurefreier Formol-Ringer-Lösung etwa 2—3 Min. *nach* erfolgter Vermischung von Blut und Farbstoff vollkommen vermieden werden. Irgendwelche Strukturveränderungen am Kern oder an der reticulo-filamentären Substanz werden durch diesen Formolzusatz nicht verursacht. Es sei noch erwähnt, daß das mit Formol versetzte Blut-Farbstoffgemisch nicht gerinnt.

Für rein morphologische Arbeiten eignen sich diese Färbemethoden und die weiter angegebene Verarbeitungsweise vorzüglich. Es kommen bei ihrer richtigen Anwendung alle strukturellen Veränderungen, die das übliche Ausstrichverfahren insbesondere an den überaus empfindlichen und rasch zugrundegehenden erythroblastischen Frühformen in mitunter weitgehendem Ausmaß durch mechanische Einwirkungen und Austrocknung entstehen läßt, in Wegfall.

Die Abbildungen in der vorliegenden Arbeit wurden nach Mikrophotogrammen und ergänzenden Aufzeichnungen angefertigt. Es liegen dabei in keinem Falle nur Einzelbeobachtungen vor.

### Ergebnisse.

Die verschiedenen Reifungsformen der früh- und spätembryonalen Erythropoese treten unverletzt sämtlich als runde, scharfbegrenzte Zellgebilde in Erscheinung. Die Zelldurchmesser liegen megalozytär um 12—16  $\mu$ , normozytär um 8—10  $\mu$ . Das ungefähre zahlenmäßige Verhältnis zwischen megaloblastischen-megalozytären und normoblastischen-normozytären Elementen in den einzelnen embryonalen Entwicklungsstadien ist in der oben wiedergegebenen Zusammenstellung des verarbeiteten Materials unter M/N angegeben; diese Zahlen stimmen im wesentlichen mit den Angaben von *Seyfarth* und *Jürgens*, die ebenfalls Mäuseembryonen untersuchten, überein.

#### *Morphologie des frühembryonalen Reifungsvorganges.*

Der Vorgang der megalozytären Ausreifung nimmt seinen Ausgang von einer Zelle mit großem, zart-netzförmig strukturiertem Kern, der zentral in einem von vitalgranulären Einlagerungen völlig freien Plasmakörper liegt (Abb. 1). Diese Zellform, in der der eben in letzter Reifungsteilung seiner Bildungszelle entstandene Megaloblast erblickt werden muß, war in den untersuchten 4 mm langen Embryonen in verhältnismäßig großer Anzahl nachweisbar; sie konnte weiterhin in den älteren Entwicklungsstadien von 5—7 mm Länge in zunehmend allerdings rasch wesentlich verringerter Menge aufgefunden werden.

Im nun einsetzenden Reifungsvorgang dieser Zelle treten die ersten vitalfärbbaren Elemente zunächst in körniger Form unmittelbar an oder unter der Kernoberfläche auf; sie fließen rasch zu einem dem noch kaum veränderten Kern weitmaschig eng aufliegenden Netz zusammen (Abb. 2); dasselbe verdichtet sich durch starke Vermehrung der Körnelung immer mehr und umlagert nun ringartig den unterdessen schon merklich verkleinerten und gröber strukturierten Kern (Abb. 3). Solche Zellformen wurden in großer, mit zunehmendem Alter der Embryonen aber rasch abnehmender Anzahl in allen Entwicklungsstadien von 4—8 und 10 mm Länge gefunden; in älteren Embryonen waren sie nur noch vereinzelt vorhanden.

Im weiteren Reifungsvorgang dringt nun, von dem vitalgranulären Ringnetz ausgehend, die reticulo-filamentäre Substanz in den übrigen Plasmakörper ein, den sie schließlich ganz erfüllt. Die Kerngröße nimmt



Abb. 1.



Abb. 2.



Abb. 3.

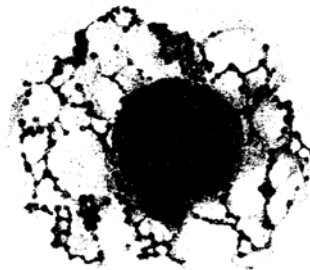


Abb. 4.

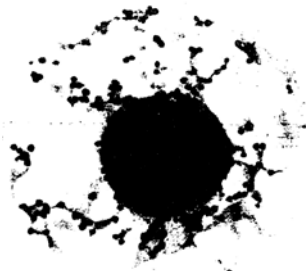


Abb. 5.



Abb. 6.

während dieses Ausbreitungsvorganges weiter ab; zugleich geht die Kernstruktur annähernd vollständig verloren (Abb. 4).

Mit zunehmender Zellausreifung lockert sich nun durch Auflösung von Körnelung und einzelner Verbindungsfäden die reticulo-filamentäre

Substanz immer mehr auf (Abb. 5). Dabei entstehen schließlich Zellformen, die nur noch wenige vitalfärbbare netzig-fädige oder körnige Elemente in mehr oder weniger zusammenhängender Lagerung enthalten (Abb. 7); auch diese können endlich vollkommen verschwinden, so daß im Plasmakörper der kleine und völlig strukturlose Kern noch allein zurückbleibt (Abb. 8). Es verliert sich in diesem Auflösungs Vorgang nicht selten die reticulo-filamentäre Substanz in Kernnähe langsamer,

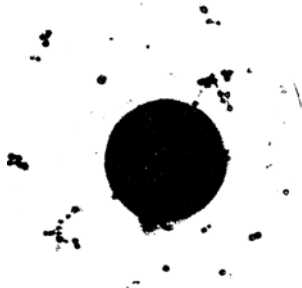


Abb. 7.

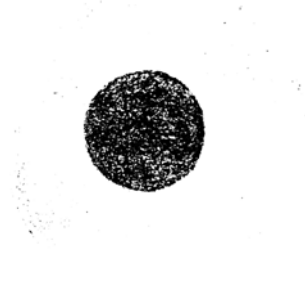


Abb. 8.



Abb. 9.



Abb. 10.

als im übrigen Plasmakörper (Abb. 6) — eine Erscheinung, die möglicher, weise mit einer bis zuletzt erfolgenden Abscheidung von Kernsubstanzen, die am Aufbau der Vitalgranulation wesentlich mitbeteiligt sind, wenn sie nicht dieselbe ausschließlich zusammensetzen, zusammenhängt. Es geht indessen sehr häufig der Plasmakörper auch schon vor der restlosen Auflösung der letzten reticulo-filamentären Substanz des Kerns verlustig; die dadurch entstehenden Megaocyten enthalten regelmäßig nur geringe vitalgranuläre Reste, die da und dort im Plasmakörper verstreut liegen (Abb. 10) und schließlich ebenfalls in ihm aufgehen. Alle diese zuletzt beschriebenen Zellformen finden sich in 6—18 mm langen Embryonen, wobei verhältnismäßig die Anzahl der reiferen Elemente mit zunehmendem Alter der Embryonen größer wird; die absolute megalozytäre

Zellzahl nimmt aber zugleich wesentlich ab: Zellen der frühembryonalen Erythropoese waren in älteren als 18 mm langen Entwicklungsstadien nicht mehr nachweisbar.

Der Vorgang der endlichen Megaloblastenentkernung scheint im allgemeinen auf dem Wege intracellulärer Auflösung zu erfolgen: die kleinen strukturlosen Kerne, die dabei zunächst ihre runde Form unverändert beibehalten, verlieren mehr und mehr die Eigenschaft der supravitalen Färbbarkeit (Abb. 7); es entsteht der Eindruck eines allmählichen Substanz austausches zwischen Plasmakörper und sich verflüssigendem Kern, wobei die vermutlich starrereren und widerstandsfähigeren äußeren Kernschichten sich noch längere Zeit erhalten, ehe auch sie in sich zusammenbrechen und aufgelöst werden (Abb. 9).

Eine weitere Möglichkeit der Entkernung scheint in der Form der Kernausstößung gegeben: nur vereinzelt allerdings, aber doch mit einer gewissen Regelmäßigkeit wurden eigenartige, sehr kleine Zellgebilde beobachtet, die in einem schmalen, vollkommen vitalgranulationsfreien Plasmasaum einen strukturlosen megaloblastenkerngroßen Kern aufwiesen (Abb. 11): sie verhalten sich Nachfärbungen gegenüber, was sowohl Plasma, wie Kern angeht, genau wie reifere Megaloblasten. Es wäre vorstellbar, daß dabei ausgestoßene, von etwas Plasmamasse der ursprünglichen Zelle umgebene Megaloblastenkerne vorliegen. Andere Zellformen, die nach morphologischen und entwicklungsmäßigen Kriterien hätten sinnvoll an dieses Zellgebilde angereiht werden können, waren nicht nachweisbar.



Abb. 11.

#### *Morphologie des spätembryonalen Reifungsvorganges.*

Am Anfang des normozytären Ausreifungsvorganges steht eine Zelle, die in einem von vitalfärbbaren Elementen völlig freien Plasmakörper einen verhältnismäßig großen Kern mit grobnetziger Struktur besitzt (Abb. 12). Solche Zellgebilde, die aus letzter Reifungsteilung erythroblastischer Vorstadien hervorgegangene Normoblasten vorstellen, wurden regelmäßig in 6—8 mm langen Embryonen in ziemlich großer Anzahl gefunden; in den älteren Entwicklungsstadien von 10—14 mm Länge waren sie ebenfalls, in rasch allerdings stark verringerter Menge, noch nachweisbar.

Es scheint, daß normozytär die ersten Reifungsphasen im allgemeinen durch ein ganz ähnliches Auftreten der Vitalgranulation ausgezeichnet sind, wie megalozytär. Es konnten nämlich regelmäßig Zellformen beobachtet werden, die unmittelbar an oder unter der Kernoberfläche gelegen einige körnige vitalfärbbare Elemente zunächst unzusammenhängend, dann weitmaschig miteinander verbunden, aufwiesen (Abb. 13). Aus diesem lockeren, dem Kern dicht anliegenden Netz kann durch Vermehrung der reticulo-filamentären Substanz nicht selten noch eine schmale kranzförmige Zone um den Kern entwickelt werden. Die Kerne

solcher mit einem vitalgranulären Ringnetz ausgestatteten Zellen sind meist schon etwas verkleinert und gröber strukturiert (Abb. 14). In 6—12 mm langen Embryonen sind derartige normoblastische Zellformen mit ersten vitalgranulären Einlagerungen und Ringnetzen regelmäßig, aber in noch verhältnismäßig geringer Menge vorhanden; ihre Zahl steigt, im Zusammenhang mit der im weiteren immer ausgedehnter sich entwickelnden normozytären Erythropoese, in den älteren Entwicklungsstadien von etwa 12—16 mm Länge ganz unverkennbar an; später erfolgt ein erneuter zahlenmäßiger Rückgang dieser Elemente im Blut — eine Erscheinung, die wohl mit einer örtlichen Festlegung des Ablaufs der ersten normoblastischen Reifungsphasen in den erythropoetischen Bildungsstätten erklärt werden muß.

Die weitere normoblastisch-normozytäre Ausreifung verläuft nun in grundsätzlich anderer Weise, als der megaloblastisch-megalozytäre Reifungsvorgang: sie ist durch die Erscheinung eines die gesamte noch vorhandene Kernmasse erfassenden vollständigen und sehr rasch erfolgenden Zerfalls gekennzeichnet — einem Vorgang, der vitalfärbbare Substanzen in großer Menge aus dem

Kern freiwerden läßt: sie liegen, mit dem zuerst gebildeten vitalgranulären Ringnetz untrennbar verschmolzen, in zunächst äußerst dichter Anhäufung in der Mitte des Zellplasmas; mitunter werden in dem zentralen Reticulum ein oder mehrere gröbere Klümpchen, in denen Kernzerfallsreste vermutet werden können, sichtbar (Abb. 15). Es ist wahrscheinlich, daß ein solcher Kernzerfall auch schon zu einem



Abb. 12.



Abb. 13.



Abb. 14.



Abb. 15.



Abb. 16.



Abb. 17.



Abb. 18.



Abb. 19.

früheren Zeitpunkt der Ausreifung erfolgen kann, d. h. wohl schon *vor* Ausbildung der erwähnten kranzähnlichen Ansammlung reticulo-filamentärer Substanz um den Kern: dabei entstehen Zellformen, die ebenfalls die aus der Kernmasse abgeschiedenen vitalfärbbaren Elemente in der Zellmitte liegen haben; diese Ansammlungen, die etwa Zellkerngröße besitzen, machen trotz mitunter mehrfacher Randaussparungen einen auffallend geschlossenen Eindruck (Abb. 16).

Im weiteren Reifungsvorgang erfolgt nun, zugleich mit einer allmählichen Ausbreitung der reticulo-filamentären Substanz im Plasmakörper, eine durch Auflösungsvorgänge verursachte mengenmäßige Verringerung derselben (Abb. 17 und 18); dabei bleiben schließlich nur noch wenige vitalgranuläre Elemente übrig, die in der Zelle lose verstreut sind (Abb. 19); auch diese verschwinden endlich völlig. Alle diese zuletzt beschriebenen Zellformen sind in sämtlichen über 8 mm langen Embryonen in großer Menge vorhanden; die Zahl der reiferen Zellformen nimmt dabei mit wachsendem embryonalen Entwicklungsalter stetig zu.

### Besprechung der Ergebnisse.

Von fast allen Untersuchern der Frage der embryonalen Erythropoese der Säugetiere sind die vorhandenen Verschiedenheiten zwischen megaloblastisch-megalozytären und normoblastisch-normozytären Zellmaterial als wesensbedingt verstanden worden. Auch die in der vorliegenden Arbeit niedergelegten Ergebnisse supravitaler Färbung zeigen so weitgehende unterscheidende Merkmale in morphologischer und formal-genetischer Hinsicht, daß an einer echten Artverschiedenheit der früh- und spätembryonalen Blutbildungssubstrate kaum gezweifelt werden kann. Irgendwie verbindende Zwischenglieder zwischen megalozytärer und normozytärer Erythropoese waren nicht nachzuweisen.

Die frühembryonale Erythropoese, deren Elemente zwischen 12 und 16  $\mu$  liegende Zelldurchmesser besitzen, ist durch *Kernpersistenz* ausgezeichnet; sie umfaßt den ganzen Zeitraum vom ersten Auftreten vitalgranulärer Bildungen am Kern bis zum annähernd vollständigen oder restlosen Wiederverschwinden der dazwischen sich stark entwickelnden und den ganzen Plasmakörper durchdringenden reticulo-filamentären Substanz. Zwar gehen während dieses Vorganges am Kern, ehe er selbst wahrscheinlich durch vorwiegend intracelluläre Auflösung verschwindet, weitgehende Veränderungen vor sich, die in stetig fortschreitender Verkleinerung und Verdichtung bestehen; er wird dabei aber doch als gestaltlich einheitlicher Körper erhalten, der sich vom übrigen Zellraum wohl abgrenzt.

Es zeigt demnach die Anwendung supravitaler Färbung in der frühembryonalen Erythropoese ganz ähnliche Verhältnisse, wie solche mit



eben derselben Methode schon in der megalozytären Erythropoese der perniziösen Anämie nachgewiesen wurden (*Kinkel* und *Hofer*). So weitgehend nun aber das morphologische und formal-genetische Verhalten der Erythropoese dieses Krankheitszustandes mit den Eigentümlichkeiten der frühembryonalen Blutbildung übereinstimmen mag, so kann daraus natürlich nicht ohne weiteres eine Wesensgleichheit der beiden megaloblastischen Blutbildungsstrate gefolgert werden. Diese von älteren Autoren (vor allem *Ehrlich*, *Naegeli*) vertretene Anschauung, nach welcher die der perniziösen Anämie eigentümlichen Megaloblasten embryonaler Natur wären, ist wohl auch allgemein aufgegeben worden. Es wird vielmehr angenommen, daß in den megaloblastischen und megalozytären Elementen der perniziösen Anämie nur krankhaft veränderte, durch Fehlen des die normale Blutbildung verantwortenden erythropoetischen Reifungsprinzips von ihrer eigentlich normozytären Entwicklungsrichtung abgedrängte Abkömmlinge normaler erythroblastischer Vorstufen vorliegen; die rasche und vollständige Wandlung, die eine entsprechende Behandlung im megaloblastischen Knochenmark perniziös-anämischer Zustände hervorzurufen vermag, läßt die Richtigkeit dieser neueren Vorstellung unmittelbar erkennen. Die sicher weitgehende Isomorphie der embryonalen und perniziös-anämischen Megalopoese muß somit als Erscheinung transgredienter Variabilität verstanden werden.

Die Vermutung, die gemeinsame Ursache der embryonalen und perniziös-anämischen Megaloblastenbildung liege möglicherweise in einem Mangel an endogenem Magensaftfaktor (*Töttermann*, *Wintrobe* und *Shumaker*), ist auch mit dem Hinweis auf die Tatsache des zeitlichen Zusammentreffens der Magendrüseneinstellung und der Ablösung der primär-megalozytären Erythropoese durch die sekundär-normozytäre Erythropoese in der Embryonalentwicklung kaum sicher unterlegt.

Die spätembryonale Erythropoese, deren Elemente zwischen 8 und  $10\mu$  liegende Zelldurchmesser besitzen, ist durch raschen und vollständigen *Kernzerfall* in sehr frühen Normoblastenstadien gekennzeichnet. Die zum kleineren Teil vor diesem Vorgang auftretende, zum größeren durch denselben unmittelbar freiwerdende reticulo-filamentäre Substanz liegt zunächst kernähnlich in der Mitte des Plasmakörpers, um sich sodann im weiteren Reifungsverlauf in demselben auszubreiten und aufzulösen.

Es bestehen also Verhältnisse, wie solche als Ausdruck einer lebhaften Erythrocytenneubildung im kräftig regenerierenden Knochenmark sekundärer Anämien gegeben sind (*Kinkel* und *Hofer*). Es liegt dabei kein eigentlich krankhafter Vorgang, sondern lediglich eine mit Reifungsbeschleunigung verbundene, das gewöhnliche Ausmaß überschreitende einfache Steigerung der erythropoetischen Tätigkeit vor; dies trifft natürlich für den embryonalen, in überaus raschem Aufbau befindlichen Organismus in ebenfalls ausgesprochener Weise zu. Es scheint, daß

embryonal der Reifungsvorgang unter allmählicher Kernauflösung, wie er regelmäßig in der normozytären Erythropoese ausgewachsener Individuen nachweisbar ist, nicht oder nur ansatzweise vorkommt.

In der Untersuchung vorliegender Fragen sind, wie schon eingangs erwähnt wurde, nur vereinzelt supravitale Färbemethoden angewandt worden. *Seyfarth* und *Jürgens*, um deren ebenfalls an Embryonen weißer Mäuse ausgeführte Untersuchungen es sich im wesentlichen handelt, kamen allerdings zu anderen Ergebnissen, als oben ausgeführt wurde. Zwar scheiden auch sie, vornehmlich im Hinblick auf die verschiedenen Zellgrößen, megalozytäre und normozytäre Blutbildung grundsätzlich voneinander; sie nehmen indessen dabei doch wesentlich gleichartige Reifungsvorgänge für die früh- und spätembryonale Erythropoese an:

Es würde nach diesen Untersuchern in der megalozytären und normozytären Zellentwicklung die reticulo-filamentäre Substanz, die von vornherein den ganzen verfügbaren Plasmaraum vollständig erfüllen soll, im weiteren Reifungsvorgang stets zunächst ringartig um den allmählich zusammenschrumpfenden und dabei schließlich verschwindenden Kern angeordnet sein; nach erfolgter Kernauflösung würde die reticulo-filamentäre Substanz, die als dichte Ansammlung nun in der Mitte der Zelle liegt, sich auflockern und im ganzen Plasmakörper verteilen, um sich darin endlich ebenfalls aufzulösen: an Kern und Vitalgranulation würden megalozytär und normozytär sich also dieselben Reifungsveränderungen abspielen.

Die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Untersuchungsergebnisse stehen der eben erwähnten Auffassung widerspruchsvoll gegenüber, nicht nur, was manche morphologische Eigentümlichkeiten im einzelnen, vielmehr auch die vermutliche entwicklungsmäßige Aufeinanderfolge der verschiedenartigen Elemente des megaloblastisch-megalozytären und normoblastisch-normozytären Zellmaterials im ganzen angeht: so war einmal eine ganze Anzahl kernhaltiger und kernloser Zellen nachweisbar, die in den *Seyfarth*- und *Jürgens*-schen Reifungsreihen nicht erscheinen und in denselben auch nicht untergebracht werden können — dazu gehören die noch ganz unreifen vitalgranulationsfreien Megaloblasten und Normoblasten, sowie die als nächste Entwicklungsstadien daraus entstehenden Zellgebilde mit ersten Andeutungen reticulo-filamentärer Substanz in unmittelbarster Kernnähe: dazu gehören weiterhin die älteren megaloblastischen Zellformen, die neben einem kleinen strukturlosen Kern, der indessen noch immer einen von der übrigen Plasmamasse scharf abgegrenzten morphologisch einheitlichen Körper darstellt, nur noch geringe vitalgranuläre Reste enthalten, sowie die daraus sich entwickelnden noch kernhaltigen, aber schon vitalgranulationsfreien Zellgebilde usw. — weiter konnten nun aber in der megaloblastisch-megalozytären Entwicklung vitalgranuläre Zellformen nachgewiesen werden, die im normoblastisch-normozytären Reifungsvorgang nicht vorkommen, und umgekehrt wurden normozytäre Elemente aufgefunden, die ähnlich die Megalopoese nicht kennt.

Wenn schließlich die allgemein dem erythrozytären Reifungsvorgang eigentümlichen Erscheinungen des Kernuntergangs einerseits, des Auftretens und Wiederverschwindens der reticulo-filamentären Substanz andererseits in ihren gegenseitigen morphologischen Zusammenhängen zu sehen versucht wird, so wird zu den zahlreichen unterscheidenden Merkmalen der megalozytären und normozytären Erythropoese im einzelnen auch die wesentliche Verschiedenheit der früh- und spätembryonalen Blutbildung in formal-genetischer Beziehung eindrucksvoll sichtbar: die megalozytäre Erythropoese ist durch auffällige Kernpersistenz ausgezeichnet, die normozytäre Erythropoese zeigt dagegen raschen intracellulären Kernzerfall; in der ersten erfolgt die endliche Auflösung des durch allmähliche Schrumpfungsvorgänge verkleinerten Kerns etwa zum Zeitpunkt des vollständigen Wiederverschwindens der reticulo-filamentären Substanz, in der anderen geht der Kern längst vor der intraplasmatischen Auflösung der Vitalgranulation schon zu Anfang des Reifungsvorganges rasch zugrunde, ohne zuvor der Megaloblastenentwicklung entsprechende Veränderungen zu erleiden.

Es ist sicher, daß die mehr oder weniger vollständige Erfassung aller vorhandenen Zellformen ebenso, wie ihre möglichst unveränderte Erhaltung entscheidend von der Art des angewandten methodischen Vorgehens abhängt. Es werden zweifellos die Arbeitsweisen vorzuziehen sein, die mit ausreichenden Färbebedingungen eine möglichst weitgehende Schonung des Zellmaterials durch Ausschaltung störender physikalisch-chemischer Einflüsse verbindet. *Seyfarth* und *Jürgens* wandten vornehmlich zur supravitalen Färbung den Feuchtkammerausstrich an, der meist nachgefärbt wurde. Ein solches Vorgehen, das nicht immer günstige Voraussetzungen für eine gute und gleichmäßige Farbaufnahme in den Zellen gewährleistet und nie die schädlichen Einwirkungen durch mechanische Faktoren und Austrocknung vermeidet, muß notwendig zu anderen Ergebnissen führen, als das in der vorliegenden Arbeit geübte, weit schonendere Verfahren. Es macht sich dieses ganz besonders megaloblastischen und normoblastischen Frühformen gegenüber geltend, die unverkennbar außerordentlich verletzlich sind: So wird mitunter gerade an diesen Formelementen durch ringartig geschlossene Anordnung der reticulo-filamentären Substanz um den Kern eine Zellbegrenzung vorgetäuscht, die gar nicht dem wirklichen Umfang des verletzten und mehr oder weniger vollständig zerstörten Plasmakörpers entspricht. Die meist angewandten Nachfärbungen haben natürlich nur sehr bedingten Wert: Die durch Einwirkung der zuvor angewandten Vitalfarbstoffe in den lebenden Zellen verursachten Veränderungen sind vielfach solcherart, daß die nachträglich erscheinenden Strukturen keineswegs mehr mit dem ohne eine solche Vorbehandlung darstellbaren Innenaufbau vergleichbar sind.

### Zusammenfassung.

Es wurden mit supravitalen Färbemethoden die embryonalen Erythropoeseverhältnisse an Mäuseembryonen aller Entwicklungsstadien untersucht. Dabei wurden, von den verschiedenen Zellgrößen abgesehen, weitgehende unterscheidende Merkmale zwischen frühembryonaler *megalozytärer* und spätembryonaler *normozytärer* Erythropoese nachgewiesen. nicht nur, was die durch Entkernungsvorgang einerseits, durch Auftreten

und Wiederverschwinden der reticulo-filamentären Substanz andererseits im einzelnen gegebenen Eigentümlichkeiten, sondern auch die gegenseitigen Zusammenhänge dieser Erscheinungen im ganzen Entwicklungsgeschehen der Zelle angeht. Es wurden zwei Reifungsreihen aufgestellt, die die wesentliche, durch keinerlei Zwischenformen überbrückte Verschiedenheit des megaloblastisch-megalozytären und normoblastisch-normozytären Zellmaterialies in morphologischer und formal-genetischer Hinsicht unverkennbar dartun.

### Schrifttum.

- Askanazy, M.*: In *Henke-Lubarschs Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*. Bd. I/2. Berlin: Julius Springer 1927. — *Becart, A.*: Rev. Méd. **53**, 313 (1936). — *Doan*: Zit. nach Kongreßzbl. inn. Med. **40**, 553. — *Hirschfeld, H.* u. *A. Hittmair*: Handbuch der allgemeinen Hämatologie. Wien-Berlin: Urban & Schwarzenberg 1934. — *Kinkel, H.* u. *W. Hofer*: Virchows Arch. **306**, 228 (1940). — *Knoll, A.*: Dtsch. Arch. klin. Med. **136** (1921). — Z. mikrosk.-anat. Forsch. **21**, 552 (1930). — *Nägeli, O.*: Fol. haemat. (Lpz.) **5**, 525 (1908). — Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Berlin: Julius Springer 1931. — *Pappenheim, A.*: Fol. haemat. (Lpz.) **7** (1909); **9** (1910). — Morphologische Hämatologie. Leipzig 1919. — Virchows Arch. **145** (1896). — *Piney, E.*: Proc. roy. Soc. Med. **18**, 1. — *Schulten, H.*: Lehrbuch der klinischen Hämatologie. Leipzig: Georg Thieme 1939. — *Seyfarth, C.*: Fol. haemat. (Lpz.) **34**, 7 (1927). — *Seyfarth, C.* u. *R. Jürgens*: Virchows Arch. **266**, 676 (1927). — *Töttermann, G.*: Acta med. scand. (Stockh.) **90**, 527. — *Wintrobe, M. M.* and *H. B. Shumaker jr.*: J. clin. Invest. **14**, 837 (1935).