

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Florenz  
(Direktor: Prof. ANTONIO COSTA).

## Das Blutserum als Faktor für die „Zellausschwemmung“ in der normalen und in der leukämischen Hämpoese\*.

Von

ANTONIO COSTA und PIER LUIGI CIPRIANI.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. August 1952.)

Da wir die Ehre haben, in denselben Räumen zu arbeiten, die durch das Werk von GUIDO BANTI berühmt wurden, finden wir unsere Aufmerksamkeit auf ganz besondere Art auf das Phänomen der plötzlichen Ausschüttung von leukämischen Zellen in den Kreislauf — die leukämische Ausschwemmung — gelenkt.

Bei Betrachtung der Arbeiten von Pathologen, die nach BANTI wirkten, stellen wir fest, daß über den intimen Mechanismus der leukämischen Ausschwemmung noch Unklarheit herrscht.

Als Schwelle, von welcher die leukämische Ausschüttung ihren Ausgang nimmt, werden einmal das Knochenmark (G. BANTI), ein anderes Mal die Milz, die Leber oder die Lymphknoten (K. ROHR) angenommen. Alles dies ist formell und nicht im Bereich der scharfen und begründeten Gedankenformulierung der modernen Pathologie. „Von klinisch-hämatologischer und pathologisch-anatomischer Seite wurde bisher ganz allgemein auf die Frage des Zellausschwemmungsmechanismus aus dem Knochenmark ein *Ignoramus* gelehrt“ (K. ROHR 1940, S. 86).

Die Gründe dieser Unterbrechung der Gedanken sind in der Tatsache zu suchen, daß wir, die wir den Wunsch haben, die Ursache der leukämischen Ausschwemmung festzustellen, *nicht einmal den Mechanismus kennen, welcher bei der physiologischen Ausschwemmung die reifen Knochenmarkszellen unter Bildung ihrer normalen Komponente in den Blutkreislauf eintreten und welcher die unreifen in der Struktur des Knochenmarks verbleiben läßt.*

Man weiß, wie bedeutungsvoll für die grundlegenden Aufstellungen der experimentellen Untersuchungen das Studium über die Wirkungen ist, Wirkungen, durch welche dann ein morphologisches Bild des Organismus entsteht. Nun, *es wurde bisher niemals die Funktionalität der Markschwelle untersucht, wenn man sie (natürlich ohne die Bedingungen für die Vitalität des Organs herabzusetzen) dem Einfluß der Blutfaktoren entzieht und dann plötzlich wieder unter die Einwirkung des genannten Einflusses bringt.*

---

\* GUIDO BANTI gewidmet von seinem Schüler ANTONIO COSTA (1923/24).

Dies war der leitende Gedanke unserer Untersuchungen. Weiter unten werden wir die technischen Einzelheiten genauer beschreiben; hier zuerst die Synthese des Untersuchungsganges:

Beim Kaninchen wurde als Erstes die Entblutung der hinteren Glieder durchgeführt, mit darauffolgender Perfusion von Ringerlösung durch die Aorta abdominalis. Die Vena cava inferior wurde durchschnitten und ihr oberes Ende abgeschnürt. Somit konnte das Versuchstier während der ganzen Untersuchung am Leben erhalten werden. Dabei wurden 2 Kontrollabstriche des Knochenmarks der 2 vorderen Glieder angefertigt.

Die Perfusion der hinteren Glieder dauerte ununterbrochen etwa  $\frac{1}{2}$  Std an. Nach diesen 30 min injizierte man langsam in die rechte Arteria ilica 5 cm<sup>3</sup> frisches Kaninchenserum (bei anderen Tieren wurde dagegen menschliches Serum verwendet). In die linke Arteria ilica injizierte man 5 cm<sup>3</sup> physiologischer Kochsalzlösung. Nach 15 min wurden die 2 Oberschenkelknochen reseziert, um die entsprechenden Knochenmarkabstriche anfertigen zu können. Bei anderen Gruppen von Tieren wurden anstatt des frischen Kaninchensersums ein mit Hitze (56 °) vorbehandeltes Serum, ein röntgenbestrahltes Serum, das Ultrafiltrat oder die verschiedenen Serumfraktionen verwendet; bei weiteren Tieren wurden endlich Lösungen mit Vitamin B<sub>12</sub> angewandt.

*Technik.* Die Kompliziertheit der nötigen Handgriffe und die Schnelligkeit, mit der sie durchgeführt werden müssen, um eine intravasale Blutgerinnung zu verhindern (was die Durchführung der Perfusion unmöglich machen würde) und um den Tod des Tieres zu vermeiden, ergeben die Notwendigkeit, die Handgriffe selbst in der angegebenen Reihenfolge durchzuführen. Es wird vorausgesetzt, daß sämtliche Handgriffe sowie das Material der Asepsis unterworfen sind.

In einen gewöhnlichen Perfusionsapparat, der mit einem langen Gummirohr versehen ist, wird eine genügende Quantität von isotonischer, bei konstanter Temperatur gehaltener und mit Sauerstoff angereicherter Ringerlösung gebracht. Das Gummirohr des Perfusionsapparates endet in einem Y-förmigen Glasröhrchen, an welches 2 weitere Gummiröhrchen angeschlossen sind, die mit 2 Nadeln mittlerer Größe versehen sind; mit Hilfe von 2 Schraubenklammern ist es möglich, das rechte bzw. linke Gummiröhrchen getrennt voneinander zu schließen.

Das Tier wird auf den Rücken gelegt, mit gebundenen vorderen Gliedern; die hinteren Gliedmaßen dagegen werden nicht gebunden, sondern von einem Assistenten gehalten, um die hämatische Stasis zu verhindern, die sonst durch die Verschnürung zustande kommen würde. Man bereitet das abdominelle Operationsfeld nach den gewöhnlichen Asepsisregeln vor und nach einer Laparotomia mediana xipho-pubica wird die Freilegung der Aorta und der Vena cava durchgeführt. Einen Zentimeter unterhalb des Abganges der 2 Nierengefäße werden die beiden Gefäße (Aorta und Cava) voneinander getrennt; mit Hilfe einer ausgekehrten Sonde wird je eine Schlinge um jedes Gefäß gelegt.

Die erste Schlinge um die Aorta wird zusammengezogen; schnell faßt man die Aorta mit einem Klemmer unterhalb der Abschnürung und durchschneidet sie; mit möglicher Schnelligkeit werden die 2 Nadeln des Perfusionsapparates in die rechte bzw. in die linke Arteria ilica eingeführt, und man beginnt mit der Perfusion.

Sofort danach wird auch die Schlinge um die Vena cava zusammengezogen, und man schneidet das Gefäß unterhalb der Abschnürung durch; in das untere Ende des Gefäßes wird ein Glasrohr eingeführt.

Während der Perfusion (tropfenweise, je Minute 60 Tropfen der isotonischen, mit Sauerstoff angereicherten und bei konstanter Temperatur von 38° gehaltenen Ringerlösung) und während das Tier noch am Leben ist, wird die Resektion eines

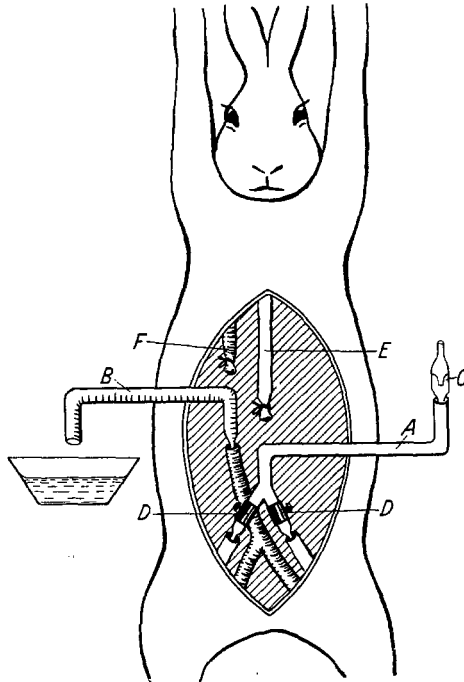


Abb. 1. Schema der Technik zur Perfusion der unteren Glieder beim Kaninchen und zur Sammlung der Durchspülflüssigkeit. A Gummischlauch mit 2 Abzweigungen in den Arteriae iliacae; B Abflußrohr in der Vena cava; C Tropfenzähler in dem Perforationsrohr; D Schraubenklammer um den rechten bzw. linken Schenkel des Perforationsapparates alternierend zu schließen; E Abgeschnittenes und abgeschnürtes proximales Ende der Aorta; F abgeschnittenes und abgeschnürtes proximales Ende der Vena cava.

Knochenfragmentes aus dem rechten vorderen Glied vorgenommen, zwecks Anfertigung von Kontrollabstrichen des Knochenmarks.

In der Zeit, die uns bis zum Ende der Perfusion noch zur Verfügung steht (sie soll 30 min dauern), werden 2 Schlingen um die Nadeln gelegt, die mit den 2 Arteriae iliacae in Verbindung sind. Dies, um den Rückfluß der Perforationsflüssigkeit zu verhindern und um die Möglichkeit des Herausrutschens der beiden Nadeln durch etwaige Bewegungen des Versuchstieres auszuschalten.

Am Ende der Perfusion wird die Klemme des mit der linken Arteria ilica in Verbindung stehenden Gummischlauches zugemacht und durch eine in den Gummi des 2. Rohres eingestochenen Nadel werden in die rechte Arteria ilica langsam 10 cm<sup>3</sup> frisches Blutserum injiziert; jetzt sammelt man die aus der Vena cava abfließende Flüssigkeit.

Nun wird die Klemme in Verbindung mit der rechten Arteria ilica zugemacht und nach Öffnung der Klemme des anderen Rohres, werden in die entsprechende Arterie 10 cm<sup>3</sup> physiologischer Lösung eingespritzt; wie vorhin sammelt man die aus der Vena cava abfließende Flüssigkeit.

Mit der gebotenen Schnelligkeit werden Knochenfragmente aus den 2 hinteren Gliedmaßen entnommen zwecks Vorbereitung von entsprechenden Knochenmarkabstrichen; analog dazu werden Abstriche vom linken vorderen Bein angefertigt. Die Letztere als Kontrolle für die Abstriche des rechten vorderen Beines, die schon am Anfang des ganzen Experimentes gemacht wurden.

Von der aus der Vena cava gesammelten Flüssigkeit nach Injektion von Blutserum bzw. physiologischer Lösung werden ebenfalls Abstriche angefertigt; zum Teil direkt aus der Flüssigkeit, zum Teil aus dem durch Zentrifugierung erhaltenen Sediment derselben.

Bei anderen mit derselben Technik vorbereiteten Tieren wurde in einer der 2 Arteriae ilicae (nach Perfusion der Ringerlösung) statt frischem Blutserum entweder ein mit Hitze vorbehandeltes Serum (30 min bei 56°), ein röntgenbestrahtes Serum, ein ultrafiltriertes Serum, eine nicht sterile physiologische Kochsalzlösung, ein frisches bzw. mit Hitze vorbehandeltes heterogenes Serum oder das Ultrafiltrat des Blutserums injiziert. Man hat weiter bei den verschiedenen Tieren die verschiedenen Serentypen verwendet und kombiniert; so wurde z. B. bei einem Tier frisches Serum in das rechte Bein und mit Hitze vorbehandeltes Serum in das linke Bein eingespritzt, bei einem anderen Tier dagegen physiologische Lösung in die Gefäße des rechten und inaktiviertes Serum in die des linken Beines, so daß die verschiedensten Kombinationen zustande kamen.

*Ergebnisse und Darlegung.* Die aus dem hinteren Bein (nach Perfusion von Ringerlösung, 30 min lang) angefertigten und nach der SATOSCHEN Methode für die Oxydasereaktion gefärbten Markabstriche zeigen schon beim ersten Überblick ganz unerwartet eine enorme Menge von Zellen mit positiver Oxydasereaktion: diese Fülle steht im Gegensatz zu der geringen Zahl der erythroblastischen Zellen. Die roten Blutkörperchen sind, wenn auch in geringerer Anzahl als im normalen Myelogramm (und dies ist logisch, da bei der Perfusion das aus den verschiedenen Sinus stammende Blut fehlt), doch vorhanden und zum größten Teil im Besitz der reticulären Substanz.

Ein Beispiel der hierzu angefertigten Myelogramme ist in seinen Einzelheiten folgendes:

Histiocytaire Zellen . . . . .	0,4%	Lymphoblasten . . . . .	0,8%
Hämohistioblasten . . . . .	2,0%	Lymphocyten . . . . .	4,6%
Hämocytoblasten . . . . .	1,0%	Monoblasten . . . . .	1,4%
Unreife Zellen der myeloischen		Monocyten . . . . .	2,8%
Reihe . . . . .	58,8%	Megakaryocyten . . . . .	1,4%
Granulocyten . . . . .	17,6%	Plasmazellen . . . . .	0,8%
Erythroblasten . . . . .	8,4%		

Die letzten Kubikzentimeter der aus der Vena cava ausfließenden physiologischen Lösung (s. Technik) wurden nach langem Zentrifugieren auf die vorhandenen Zellen hin untersucht: es sind in den von dem Sediment angefertigten Abstrichen nur sehr wenige rote Blutkörperchen, noch weniger Granulocyten und einige Lymphocyten vorhanden.

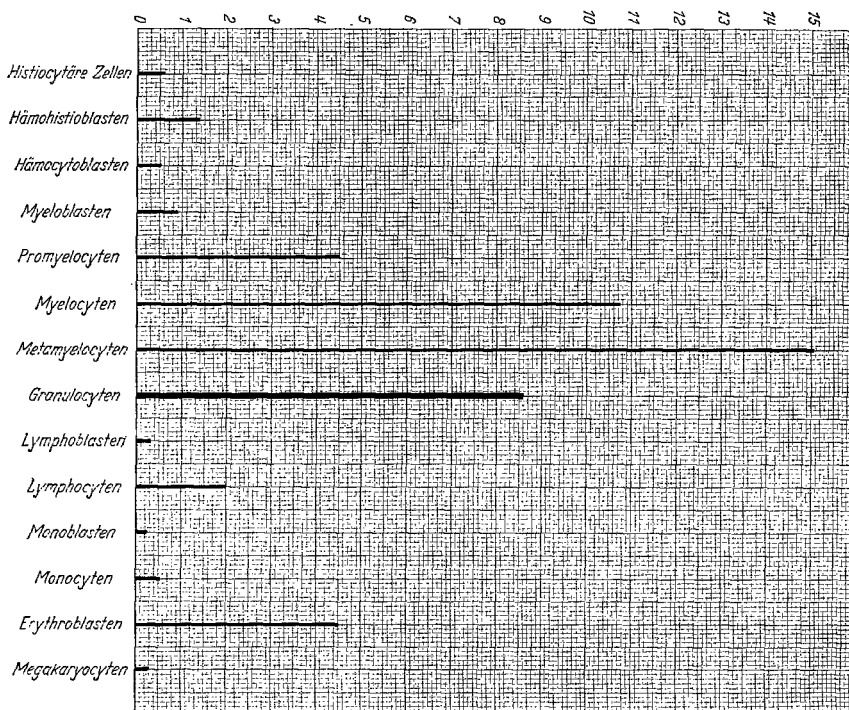


Abb. 2. Schema eines Myelogramms des Kaninchenschenkels nach Perfusion der unteren Glieder mit Ringerlösung. Man achte auf die zahlreichen Granulocyten (durch den dicken Strich bezeichnet).

Der Vergleich mit den Myelogrammen, welche aus den 2 vorderen Beinen derselben Tiere am Anfang des Experimentes (rechtes vorderes Bein) und am Ende des Experimentes (linkes vorderes Bein) angefertigt wurden, ist äußerst lehrreich. Als Beispiel das folgende Myelogramm:

Histiocytaire Zellen . . . . .	0,4%	Lymphoblasten . . . . .	2,4%
Hämo-histioblasten . . . . .	2,8%	Lymphocyten . . . . .	8,7%
Hämo-cytoblasten . . . . .	1,4%	Monoblasten . . . . .	0,8%
Unreife Zellen der myeloischen Reihe . . . . .	34,2%	Monocyten . . . . .	1,6%
Granulocyten . . . . .	9,5%	Megakaryocyten . . . . .	0,4%
Erythroblasten . . . . .	37,2%	Plasmazellen . . . . .	0,6%

Bei Betrachtung der Granulocyten ist festzustellen, daß sie, nach einem Prozentsatz von 9,5 in dem normalen (vorderen) Bein, in dem hinteren der Perfusion mit Ringerlösung für  $\frac{1}{2}$  Std unterzogenen Bein, einen Prozentsatz von 17,6 erreicht haben.

Auch ohne die Analyse des Myelogramms, zeigt schon das mikroskopische Bild, daß die Abstriche des mit Ringerlösungsperfusion vorbehandelten Knochenmarks an Granulocyten besonders reich sind.

Die Bedeutung dieses Phänomens wird durch das Fehlen der Granulocyten im Sediment der abführenden Flüssigkeit beleuchtet (s. oben).

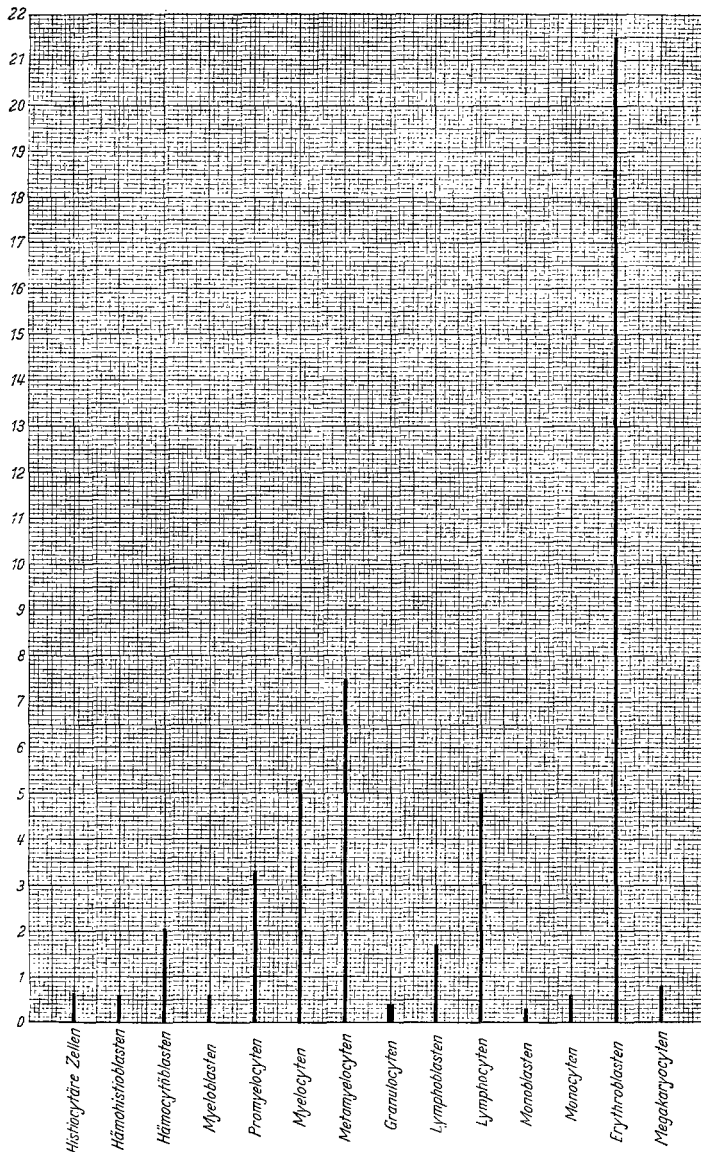


Abb. 3. Schema eines Myelogramms des Kaninchenschenckels nach Gabe von frischem Blutserum auf Perfusion mit Ringflüssigkeit folgend. Man achte auf das fast totale Verschwinden der Granulocyten, nachdem die durch das Serum verursachte Ausschwemmung zustande gekommen ist.

Dieser Befund erscheint auf den ersten Blick paradox, da zu erwarten wäre, daß die Perfusionen, auf gleiche Weise und in derselben Zeitspanne wie das kreisende Blut der vorderen Beine, die Granulocyten — und es waren normal kreisende Granulocyten vorhanden —

entfernen würde. Wie bereits oben bemerkt, ist jedoch im Gegenteil der Knochenmarkabstrich nach Ringerperfusion äußerst reich an Granulocyten, was sogar ohne Analyse des Myelogrammes offensichtlich ist. Die Bedeutung dieses Phänomens könnte unklar sein; sie wird jedoch durch die weitere Entwicklung der Untersuchungen geklärt. Wenn wir unsere Aufmerksamkeit den Knochenmarkabstrichen des hinteren, zuerst mit Ringerlösung und dann auf demselben Wege *mit frischem Blutserum* perfundierten, kontrolateralen Beines zuwenden, stellen wir zu unserem Erstaunen fest, daß die Granulocyten, die im Abstrich des nur mit Ringerlösung vorbehandelten Knochenmarks so zahlreich waren, jetzt fast völlig verschwunden sind.

Das relative Myelogramm zeigt folgende Werte:

Histiocytäre Zellen . . . . .	1,2%	Lymphoblasten . . . . .	3,2%
Hämohistioblasten . . . . .	1,2%	Lymphocyten . . . . .	10,4%
Hämocytoblasten . . . . .	4,0%	Monoblasten . . . . .	0,4%
Unreife Zellen der myeloischen		Monocyten . . . . .	0,8%
Reihe . . . . .	32,8%	Megakaryocyten . . . . .	1,6%
Granulocyten . . . . .	1,2%	Plasmazellen . . . . .	—
Erythroblasten . . . . .	43,2%		

In den Abstrichen des Sedimentes aus der nach Gabe von frischem Serum abgeflossenen Flüssigkeit finden sich auch ohne Zentrifugieren nicht nur sehr zahlreiche Erythrocyten, sondern auch viele Granulocyten, Lymphocyten und Monocyten: dazu einige wenige Promyelocyten. Dieses Phänomen ist beinahe schon makroskopisch während des Untersuchungsganges zu beobachten: das frische Blutserum scheint im Gegensatz zu der physiologischen Lösung sehr bereit zur Aufnahme von Knochenmarkzellen zu sein, da es aus der Vena cava deutlich rosa verfärbt ausfließt.

Bei Verwendung von frischem Plasma an Stelle des Serums läßt sich kein Unterschied in diesem Verhalten feststellen.

Verwendte man hingegen anstatt von frischem Blutserum ein durch Hitze inaktiviertes Serum, so bleibt das Bild des nur mit Ringerlösung perfundierten Knochenmarkes bestehen, dessen Abstrich bei der Untersuchung Granulocyten in starker Quantität aufweist. Ein diesbezügliches Beispiel gibt das folgende Myelogramm:

Histiocytäre Zellen . . . . .	0,4%	Lymphoblasten . . . . .	1,0%
Hämohistioblasten . . . . .	0,8%	Lymphocyten . . . . .	2,0%
Hämocytoblasten . . . . .	2,0%	Monoblasten . . . . .	1,4%
Unreife Zellen der myeloischen		Monocyten . . . . .	2,0%
Reihe . . . . .	61,8%	Megakaryocyten . . . . .	1,6%
Granulocyten . . . . .	12,6%	Plasmazellen . . . . .	1,0%
Erythroblasten . . . . .	13,4%		

Weitere Kontrollen durch nach Perfusion von Ringerlösung verabfolgte Gaben von röntgenbestrahltem Serum oder von Ultrafiltrat des Serums brachten Ergebnisse, die denjenigen bei der Verwendung von

mit 56<sup>0</sup> vorbehandeltem Serum völlig analog waren; analog also auch den Ergebnissen bei nur mit Ringerlösung vorbehandeltem Knochenmark.

*Dieselben Ergebnisse wurden bei Anwendung der einzelnen Proteinfraktionen des Serums (Globuline, Albumine, Albumine + Globuline in physiologischer Lösung) erzielt, sowie auch mit Serum ohne Proteine, oder ohne Albumine bzw. Globuline.*

Auch Anwendung von dialysiertem Serum zeitigte den mit Ringerlösung erzielten ähnlichen Ergebnissen.

Gibt man nach der Perfusion mit Ringerlösung Vitamin B<sub>12</sub> in physiologischer Lösung, so zeigt der Knochenmarkabstrich bei einem Überblick im Mikroskop nicht nur, wie es zu erwarten war, eine kräftige Proliferation der erythroblastischen Reihe, sondern auch eine bemerkenswerte Quantität von Granulocyten, deren Anzahl der beim mit Ringerlösung durchströmten Bein festgestellten Granulocytenmenge nahekommt. Im Myelogramm vermindert natürlich die durch die Vitamin B<sub>12</sub>-Gabe hervorgerufene große Menge der erythroblastischen Elemente, durch das „Balancement“ scheinbar die Erhöhung der Granulocytenzahl, da die Werte ja im Prozentsatz angegeben werden.

Histiocytaire Zellen . . . . .	3,0%	Lymphoblasten . . . . .	0,8%
Hämohistioblasten . . . . .	3,0%	Lymphocyten . . . . .	2,5%
Hämocytoblasten . . . . .	2,0%	Monoblasten . . . . .	0,4%
Unreife Zellen der myeloischen		Monocyten . . . . .	1,8%
Reihe . . . . .	26,4%	Megakaryocyten . . . . .	1,0%
Granulocyten . . . . .	8,8%	Plasmazellen . . . . .	0,8%
Erythroblasten . . . . .	49,5%		

Die bis jetzt angegebenen Daten weisen alle deutlich auf ein unerwartetes und fast paradoxes Phänomen hin: *um sich ablösen und in den Blutkreislauf eintreten zu können, genügen den Knochenmarkgranulocyten nicht ihre eigenen Charakteristika, sondern es ist dazu das Vorhandensein von Faktoren, die sich im Serum befinden, unbedingt nötig.*

Mit anderen Worten: die Ergebnisse der beschriebenen Untersuchungen verneinen die Annahme, die Knochenmarkgranulocyten erhielten zusammen mit ihrer Reifung die Fähigkeit, sich durch selbständige Bewegungen aus der Knochenmarkschwelle zu befreien und in das kreisende Blut einzutreten. Die Granulocyten werden vielmehr, sobald das Blut, das durch das Knochenmark geht, durch eine andersgeartete Flüssigkeit ersetzt wird — auch wenn es dabei zur myeloischen Reifung kommt — im Knochenmark zurückgehalten.

Als Beweis für diese Behauptungen mögen die beschriebenen Ergebnisse sowie die *Unbegründetheit der Einwendungen*, die man vielleicht machen könnte und deren *Entkräftung* dienen.

a) Hinsichtlich der Durchführung des Experimentes könnte der Einwand gemacht werden, daß das scheinbare Zurückhalten der Granulocyten in dem mit Ringerlösung perfundierten Knochenmark von einer



herbeigeführten Schädigung des Knochenmarkgewebes hervorgerufen würde, durch welche die Granulocyten ihre Wanderfähigkeit verloren hätten. Die Untersuchungen, bei welchen eine auf die mit Ringerlösung gemachte folgende Perfusion mit frischem Blutserum das Verschwinden der Granulocyten aus dem Knochenmark verursacht, beweisen jedoch die Vitalität dieser Zellen während des ganzen Experimentes.

b) Es ist auch falsch, anzunehmen, daß die Zahlerhöhung der Granulocyten in den Markabstrichen nach der Perfusion von nur Ringerlösung durch eine intensivere Bildung anstatt durch Zurückhaltung derselben cellulären Elemente verursacht würde; diese Hypothese wird durch das rasche Verschwinden der in dem mit Ringerlösung perfundierten Knochenmark angesammelten Granulocyten, sobald diese wieder in Berührung mit einer kleinen Quantität von frischem Serum kommen, sowie auch durch die Tatsache widerlegt, daß die genannte Wirkung des frischen Serums nicht mehr in Erscheinung tritt, wenn ein durch Hitze inaktiviertes oder röntgenbestrahltes Serum zur Anwendung gelangt.

c) Diese Darlegungen und ihre Schlußfolgerungen verhindern eine durch die physiologische Lösung — wenn auch steril — hervorgerufene Reizung anzunehmen, besonders da auch die Anwendung einer nicht sterilen physiologischen Lösung — wir wie sie zur weiteren Kontrolle verwendet haben — keine bedeutenden Unterschiede ergibt.

d) Es ließe sich weiter einwenden, daß die RINGERSche Lösung zu geringe Ähnlichkeit mit dem physiologischen Milieu hat, in welchem die Ausschüttung der reifen Zellen erfolgt und daß dies die Ursache der Ansammlung der Granulocyten in dem mit Ringerlösung perfundierten Mark sei; auch dieser Einwand fällt jedoch auf Grund der Untersuchung mit inaktiviertem oder röntgenbestrahltem Serum fort, da bei diesen letzteren Modifizierungen ein dem normalen Blutmilieu nicht unähnliches Serum verwendet wurde und trotzdem auch bei diesen Untersuchungen die Granulocyten im Knochenmark verblieben.

e) Es ist nicht anzunehmen, daß der Erhöhung der Lymphocytenzahl in dem mit Ringerlösung perfundierten Bein eine analoge Bedeutung wie der Erhöhung der Granulocytenzahl unter denselben Bedingungen zuzuschreiben ist, um dadurch die von uns angenommenen Retentionsgründe über deren quantitative Erhöhung zu entkräften; in der Tat änderten weitere Gaben von frischem Blutserum die prozentualen Werte der Lymphocyten in den Knochenmarkabstrichen wenig und aus anderen Gründen (s. später); sie verursachten hingegen das Verschwinden der Leukocyten aus dem Markfeld.

f) Auch der Einwand, daß die zahlenmäßige Vermehrung der Granulocyten (wie eigentlich der ganzen myeloischen Reihe) in dem mit Ringer-

lösung perfundierten Knochenmark, in bezug auf das „Quantum“ der Granulocyten im normalen Knochenmark, auf Grund der starken Verminderung der erythroblastischen Elemente, nur eine scheinbare Vermehrung *im Myelogramm* sei, kann nicht stimmen. Tatsächlich zeigt das gesamte Bild der Knochenmarkabstriche (ohne Zählung der einzelnen Formen) bei den beiden Untersuchungen eine an sich unterschiedliche Zahl von Granulocyten. Weiter wäre der Einwand gültig (d. h. wenn die Granulocytenvermehrung nur scheinbar und relativ im Myelogramm aufträte), so müßte die auf Perfusion von Ringerlösung folgende Gabe von frischem Blutserum das Knochenmark in seinen normalen Zustand zurückversetzen, da ja das Serum die erythroblastische Reihe zur Norm zurückführt; es sollte also die Zahl der Granulocyten auf normale Verhältnisse herabsetzen und nicht ihr völliges Verschwinden aus dem Knochenmark verursachen. Dieses Verschwinden findet dagegen seine Erklärung in der Annahme eines Freiwerdens der Granulocyten aus dem Knochenmark, welches nicht wie im normalen Knochenmark durch die im kreisenden Blut vorhandenen Granulocyten kompensiert wird; da ja während des Experimentes das kreisende Blut durch reines Serum ersetzt wird.

g) Weiter könnte man annehmen, daß bei den genannten Untersuchungen die Einwirkung nervöser Alterationen auftreten könnte, da die Wichtigkeit des Nervensystems bezüglich der Markfunktionen ja anerkannt ist. Es sind jedoch bei jeder Art von Untersuchungen die experimentellen Bedingungen die gleichen und gerade die unterschiedliche Wirkung der Ringerlösung, des frischen Blutserums und des mit physikalischen Maßnahmen vorbehandelten Serums beweist hier die Autonomie des Phänomens.

h) Wir wollen endlich noch einen Teil der Technik wiederholen, der einen anderen Einwand von sich aus entkräftet: nach der Perfusion mit Ringerlösung wurde in ein Bein frisches Serum, in das andere eine gleiche Quantität von physiologischer Lösung injiziert; dies schaltet die Annahme der Möglichkeit aus, daß das Verschwinden der Granulocyten aus dem perfundiertem Mark durch die Summierung der beiden Flüssigkeiten verursacht sei. Diese Summierung hat in der Tat — wenn auch mit Flüssigkeiten derselben Natur — auch im Knochenmark des kontralateralen Beines stattgefunden. Dieser Einwand wird schließlich durch die Untersuchungen mit inaktiviertem oder röntgenbestrahltem Serum oder mit dem Serumultrafiltrat weiter und restlos entkräftet.

Wir sind der Meinung, die Beweise für unsere Behauptung erbracht zu haben: *um sich ablösen und in den Blutkreislauf eintreten zu können, genügen den Knochenmarkgranulocyten nicht ihre eigenen Charakteristika, sondern es ist dazu das Vorhandensein von Faktoren, die sich im Serum befinden, unbedingt nötig.*

Soweit das Studium der Zellausschwemmung aus dem Knochenmark. Die physiologische Ausschwemmung bezieht sich jedoch auch auf die anderen Elemente und auf andere hämopoetische Regionen. Es lag auf der Hand, auch Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Blutserum und lymphocytärer Ausschwemmung aus den lymphatischen Organen anzustellen. Aus technischen Gründen wurden diese Untersuchungen an der Milz durchgeführt.

*Technik.* Als erstes erfolgte die Perfusion der Milz durch isoviscöse und bei konstanter Temperatur (38°) gehaltene Ringerlösung. Nach Vorbereitung des Versuchstieres und Durchführung einer Laparotomia mediana, wurde der abdominale Aortenabschnitt freigelegt: mittels einer Dechamps-Nadel wurde eine Schlinge hinter die Aorta und den kurzen Tractus zwischen A. coeliaca und Abgang der Nierenarterien gelegt; mit einer großen Klemme wurde die Aorta sofort unterhalb des Diaphragma geschlossen und dann die mit dem Perfusionsapparat in Verbindung stehende Kanüle in die Aorta selbst, von unten nach oben, unterhalb des Abganges der Nierenarterien, eingeführt; die Nadel wurde nach oben geschoben, bis die Spitze sich auf der Höhe der Arteria coeliaca befand; dann wurde — nachdem die Perfusion bereits in Gang war — die schon angelegte Schlinge geschlossen. Nachdem man einen Abflußweg durch Resektion der Porta am Leberhilus bereitet hatte, wurden die kurzen Rami gastrici und die linke Arteria gastroepiploica unterbunden (wegen der großen Zierlichkeit solcher Gefäße konnte man die Arteriolen nicht isoliert unterbinden). Die Perfusion (60 Tropfen je Minute) dauerte etwa 45 min an.

Schon von Anfang an soll die Milz eine leichte Anschwellung zeigen und sich schnell bis zu Erreichung einer weißlich-rosa Tönung entfärben; nur das Auftreten dieser beiden Erscheinungen beweist das Gelingen der Auswaschung des Organs.

Während der Perfusion führte man ein dünnes Glasröhrchen in den terminalen Abschnitt der Vena lienalis, wo die Dimensionen des Gefäßes am günstigsten sind, ein. Nach 30 min Auswaschung mit Ringerlösung wurden langsam 10 cm<sup>3</sup> frisches Blutserum (Kaninchen) zugeführt und damit die Perfusion beendet. In derselben Zeit wurde die aus der Vena lienalis durch das dünne Röhrchen abfließende Flüssigkeit gesammelt. Bei anderen Kontrolltieren dagegen wurde nach der Perfusion eine gewisse Quantität von physiologischer Lösung eingespritzt, welche dann ebenfalls aus der Vena lienalis wieder aufgefangen wurde. Die gesammelten Flüssigkeiten wurden schließlich zentrifugiert und aus den Sedimenten Abstriche angefertigt.

In den Abstrichen der aus der Vena lienalis nach Seruminjektion in die Arteria lienalis aufgefangenen Flüssigkeit sind sehr zahlreiche Lymphocyten vorhanden: Erythrocyten und Granulocyten dagegen fehlen völlig. Umgekehrt sehen wir im Sediment der aus der Vena lienalis angesammelten Flüssigkeit, nach Einspritzung von Ringerlösung in die gleichnamige Arteria nur äußerst wenige Lymphocyten.

*Es ist bezeichnend, daß auch die Ausschwemmung aus der Milz in obligater und spezifischer Korrelation mit dem Serummilieu steht.*

Wie können wir uns den Einfluß des „Serummilieu“ auf das Phänomen der physiologischen Ausschwemmung vorstellen?

Der Leser, welcher mit Geduld den Einzelheiten unserer Untersuchungen gefolgt ist, ist selbst zu den Schlüssen gekommen, welche

aus den bewiesenen Tatsachen zu ziehen sind. *Die physiologische Ausschwemmung hängt nicht von einer besonderen Fraktion des Serums oder von einer in ihm befindlichen Substanz ab.* In der Tat sind die Untersuchungen mit den Elektrolyten des Serums, mit den einzelnen isolierten proteinischen Fraktionen und mit den Seren, welchen eine besondere proteinische Fraktion entzogen war, negativ verlaufen. Es handelt sich nicht um ein Element, sondern um einen Komplex von Elementen, d. h. also, um das *Serummilieu*.

Die Untersuchungen mit Kaninchenserum und mit heterogenen, mit Hitze vorbehandelten oder röntgenbestrahlten Seren bezwecken die Klärung des Problems der Beeinflussung des Zustandekommens der emigratorischen Aktivität der Knochenmarkgranulocyten durch das Serummilieu; mit anderen Worten, es wird untersucht, ob es überhaupt einen Einfluß gibt, welcher dem Begriff der Chemotaxis zugehört.

Bei solchen Untersuchungen handelt es sich entweder um ein heterogenes oder um ein durch physikalische Behandlung zum Teil heterogenisiertes Serum: d. h. also, es sind völlig qualifizierte Eigenschaften vorhanden, um Einfluß und Anziehung auf die Granulocyten zu bilden. Aber sogar bei den Untersuchungen mit heterogenem oder heterogenisiertem Serum (d. h. mit Seren, die im Sinne der Chemotaxis aktiver als das frische und ganze Serum sind) bleiben alle Granulocyten im Knochenmark angesammelt, anstatt in das Serum einzutreten.

Wir haben weiter gesehen, daß die Granulocyten im Knochenmark in großer Quantität vorhanden sind, sobald dieses wieder in Berührung mit dem Serum kommt, dagegen wird die Lymphocytenzahl unbedeutenden Änderungen unterworfen. Nun, es ist wohl bekannt, daß die Lymphocyten durch amöboide Bewegungen die Emigrationsmöglichkeit besitzen. Und doch, trotz dieser Möglichkeit, die die Lymphocyten und die Granulocyten gemeinsam haben, ist der Einfluß des Serums auf diese Zellen im Mark unterschiedlich. Wir können somit annehmen, daß der anziehende Einfluß des frischen und ganzen Serums auf die Knochenmarkgranulocyten auf andere Weise als durch Reizung deren Mobilität in Erscheinung tritt.

Einige Feststellungen und Untersuchungen sollen diesen unseren Gedanken besser erläutern.

Bei dem Chemotaxis genannten Phänomen sind verschiedene Elemente zu unterscheiden:

- a) Fähigkeit der Granulocyten zur Emigration;
- b) Von außen wirkender Faktor, die sog. positiv chemotaxischen Substanzen;
- c) Physikalisch-chemisches Milieu.

Es ist nicht nötig, daran zu erinnern, daß, nach den Untersuchungen von K. J. FERINGA (1924), die Emigration der Granulocyten nicht durch

die chemotaxische Einwirkung von verschiedenen Substanzen, sondern durch den Unterschied der Oberflächenspannung, welche die amöboiden Bewegungen verursacht, geklärt werden kann. Auch C. HAEBLER und C. WEBER (1930) haben festgestellt, daß Lösungen von verschiedenen  $p_{\text{H}}$ -Werten keine Unterschiede im chemotaktischen Einfluß aufweisen, wenn die Oberflächenspannung dieselbe bleibt.

Dieselben Autoren haben weiter bewiesen, daß die Chemotaxis der Leukocyten sich parallel der Oberflächenspannung ändert. Dagegen sind Unterschiede des osmotischen Druckes und im H-Ionengehalt nicht von Bedeutung für die Chemotaxis, wenn die Oberflächenspannung dieselbe bleibt.

Wir haben oben bei den Untersuchungen mit heterogenen und heterogenisiertem Serum gesehen, daß a) und b) zum Zustandekommen der Ausschwemmung nicht genügen. Es war in der Tat, wenn nicht ein gewisses physikalisch-chemisches Milieu vorhanden war, d. h. dasjenige des frischen Blutserums, zwecklos, den Einfluß zu erhöhen, um so die Ausschwemmung zu erzwingen.

Es muß somit dem physikalisch-chemischen Milieu bei der Ausschwemmung große Bedeutung zuerkannt werden.

Deshalb wurde die folgende Untersuchung (nur in großen Zügen zwecks Orientierung) mit dem Zusatz eines Saponins zum Blutserum durchgeführt.

Den mit der schon beschriebenen Technik vorbereiteten Tieren wurde nach Perfusion der unteren Glieder mit physiologischer Lösung auf demselben Wege frisches Blutserum injiziert, dessen Oberflächenspannung durch Zusatz von 3,3 mg eines Saponins auf 10 cm<sup>3</sup> Serum abgeändert wurde.

Der Knochenmarkabstrich des mit Serum und Saponin perfundierten Gliedes zeigte, was die Zahl der Granulocyten anbetrifft, dasselbe Bild wie der des mit nur physiologischer Lösung perfundierten Gliedes. Das entsprechende Myelogramm ist folgendes:

Histiocytäre Zellen . . . . .	0,8%	Lymphoblasten . . . . .	1,2%
Hämohistioblasten . . . . .	2,0%	Lymphocyten . . . . .	4,3%
Hämocytoblasten . . . . .	2,8%	Monoblasten . . . . .	1,7%
Unreife Zellen der myeloischen		Monocyten . . . . .	5,1%
Reihe . . . . .	22,4%	Megakaryocyten . . . . .	0,8%
Granulocyten . . . . .	20,0%	Plasmazellen . . . . .	0,5%
Erythroblasten . . . . .	38,4%		

Der Abstrich des Sedimentes aus der Auswaschlösung nach langem Zentrifugieren zeigte das Vorhandensein sehr weniger Lymphocyten und äußerst weniger Granulocyten.

Die besprochene Untersuchung beweist also — mit Vorbehalt wegen der Ungenauigkeit des Experimentes — daß, sobald die Oberflächenspan-

nung verkleinert wird, dem Serum selbst diejenigen Eigenschaften entzogen werden, welche die Ausschwemmung verursachen.

Der physikalisch-chemische Charakter des Problems darf nicht außer acht gelassen werden. Wir dürfen auch nicht vergessen, daß die physiologische Ausschwemmung sich nicht nur auf die Granulocyten, sondern auch auf die roten Blutkörperchen bezieht; da diese letzteren keine Emigrationseigenschaften besitzen, wird es deutlich, daß die Ausschwemmung durch etwas verursacht wird, das nicht in Beziehung zu den Emigrationseigenschaften der Zellen steht. Andererseits beachte man, daß die Lymphocyten, welchen ebenfalls Emigrationseigenschaften zuzuschreiben sind, an der Knochenmarkzellausschwemmung nicht teilnehmen. Aus allem diesen resultieren 2 Tatsachen, die zueinander nicht in Widerspruch stehen: einerseits besteht ein chemisch-physikalischer Zustand des Serums, welcher die Ausschwemmung verursacht; aber andererseits besteht auch eine deutliche Elektivität auf Zelltypen, die sich an der Ausschwemmung beteiligen. Somit könnte man in der Zellenaktivität der Ausschwemmung einen Einwand gegen den chemisch-physikalischen Mechanismus finden. Der Widerspruch, wenn es überhaupt einen gibt, ist nur scheinbar; in Wirklichkeit ist der Einfluß eines chemisch-physikalischen Zustandes des Serums die Resultante der Berührung des Serums mit den verschiedenen Zelltypen; unter anderem werden diese Typen durch verschiedene Formen und Dimensionen charakterisiert; das chemisch-physikalische Niveau erreicht sein Optimum zur Herbeiführung der spezifischen Ausschwemmung nur, wenn die Zellen und das Serum ihre gegenseitigen Fähigkeiten in vollkommener Korrelation haben. Scheinbar finden die Lymphocyten im Blut des Knochenmarks nicht jene günstigen Verhältnisse, welche die Leukocyten und die Erythrocyten haben. *Zusammenfassend beherrscht der chemisch-physikalische Zustand das Phänomen der Ausschwemmung, jedoch, und gerade weil es sich um ein Optimum handelt, bewirkt dieser Zustand die Ausschwemmung nur für einige Zelltypen und nicht für die anderen.*

Wir kommen somit auf die Zusammenfassung zurück, die wir schon bei unseren experimentellen Untersuchungen aufgestellt hatten: *Die physiologische Ausschwemmung wird nicht durch die emigratorischen Charakteristika der Blutzellen, sondern durch das Serummilieu verursacht; es ist das Blutserum, dem der für das Auftreten der spezifischen physiologischen Ausschwemmung aus dem Knochenmark und aus den lymphatischen Organen unentbehrliche Faktor zuzuschreiben ist.*

Hier ist es nötig, 2 Feststellungen zu treffen. Der Leser könnte nach diesen Ergebnissen zu der Auffassung gelangen, der für die Ausschwemmung so unentbehrliche Serumfaktor sei für das Bild der Blutzellen der einzige Regulator. Diese Meinung wäre nicht gerechtfertigt. Denn, wenn auch *das Austreten der Elemente* aus dem Knochenmark an den

Serumfaktor obligat gebunden ist, so ist doch die *Zahl* der im peripheren Blut vorhandenen Elemente an verschiedene Ursachen gebunden — unter diesen hauptsächlich an den Bedarf der Peripherie —, welche die Intensität der Knochenmarkregeneration beeinflusst. Mit anderen Worten ist das hämatische Bild (wenn auch den Gesetzen der Ausschwemmung untergestellt) immer von Knochenmarkzustand abhängig.

Weiter könnte folgender Einwand gebracht werden: Warum verursacht ein und derselbe Serummechanismus — ein Mechanismus also, der für den ganzen Organismus gemein ist — die Lymphocytenausschwemmung zwar aus der Milz, jedoch nicht aus dem Knochenmark? Die Antwort ist einfach: Offenbar bewirken die Milieuunterschiede des Knochenmarks und der Milz innerhalb des chemisch-physikalischen Serummilieus Charakteristika, die für den einzelnen Boden spezifisch sind. (Man sollte denken, daß die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit — einer der charakteristischeren chemisch-physikalischen Ausdrücke — abgesehen von den Änderungen ihrer Zusammenstellung, nur durch das Mischen der Flüssigkeit selbst, bedeutenden Änderungen unterstellt werden kann.) Somit würden die so unterschiedlichen hämodynamischen Lagen des Markes und der Milz genügen, den chemisch-physikalischen Zustand so weit zu ändern, wie dies für die Ausschwemmung nötig ist. Man bedenke dazu weiter, daß die Serumzusammensetzung selbst, an verschiedenen Stellen des Körpers für die spezifische Funktion der einzelnen Organe, Änderungen unterzogen werden kann.

Wenn wir, in bezug auf die Funktion des Blutserums in der physiologischen Ausschwemmung, die Wahrheit erkannt haben, dann wenden sich unsere Gedanken sofort dem Problem der leukämischen Ausschwemmung zu. Dieses Problem, wie wir schon am Anfang angedeutet haben, liegt noch in der Unklarheit des durch die Unkenntnis des Mechanismus der physiologischen Ausschwemmung verursachten Dunkels.

Da, wie wir bewiesen zu haben glauben, das normale Blutserum einen für die Ausschwemmung der reifen Markzellen in die Blutbahn unentbehrlichen Faktor enthält, *führt dies logischerweise zu dem Gedanken, daß derselbe Mechanismus, wenn auch pathologisch, die Ausschwemmung der unreifen myeloischen Zellen verursacht.*

In der Pathologie trifft das Studium der physiologischen Ausschwemmung mit den Ergebnissen von experimentellen Untersuchungen mit leukämischem Material seitens bekannter Forscher zusammen. Schon 1930 injizierte M. VOLTERRA weißen Mäusen und jungen Kaninchen myeloisch-leukämisches Serum oder Ultrafiltrat von leukämischem Serum und erzielte transitorisch eine starke Erhöhung der Anzahl kreisender Granulocyten und das Erscheinen unreifer Formen der myeloischen Reihe im Blutkreislauf; das Serum aus leukämischem Blut verlor zum größten Teil, wenn röntgenbestrahlt, seine Aktivität. Neulich

haben G. OLIVA und C. TRAMONTANA aus der Schule von G. DOMINICI eine Untersuchung von größtem Interesse durchgeführt; sie haben freiwilligen Empfängern Serum aus leukämischen und aleukämischen, akuten und chronischen, myeloischen und lymphatischen Subjekten injiziert: Die Empfänger zeigten transitorisch im Kreislauf weiße, reife und unreife Elemente, die dem Leukämietyp der Spender entsprachen; die Ultrafiltrate dagegen genau wie das röntgenbestrahlte leukämische Serum zeigten sich inaktiv. Mit Injektionen einer Suspension getrennter leukämischer weißer Blutkörperchen haben die 2 Autoren ein ähnliches transitorisches hämatisches Bild erzielt, aber in diesem Fall hat sich die leukocytäre Reaktion des Empfängers, in bezug auf den Leukämietyp, aus welchem die weißen Blutkörperchen erhalten waren, ohne spezifischen Charakter gezeigt. Den Autoren ist es somit gelungen, die Anwesenheit eines humoralen Faktors mit leukocytärer Aktivität im Plasma des leukämischen Blutes zu beweisen; dieser Faktor ist für jede Form von Leukämie spezifisch und auch bei den aleukämischen Leukämien vorhanden. Die Autoren selbst trennen den Mechanismus der leukämischen Ausschwemmung von der Ätiologie der Leukämien nicht ab, so daß sie ihre eigenen Folgerungen an das Vorhandensein von Substanzen knüpfen, die beim Meerschweinchen myeloisch-lymphatische Reaktionen hervorrufen; eben diese Substanzen wurden von amerikanischen Autoren im Urin von leukämischen Patienten festgestellt. In bezug auf die Ätiologie können wir auch die Untersuchungen von F. MAGRASSI und Schülern (1950 und später) zitieren; sie fassen die leukämische Krankheit als eine „bedingt infektiöse Krankheit“ mit Virusätiologie auf.

Unser Ziel ist jedoch *nicht das Studium der Ätiologie der Leukämien, sondern das des Mechanismus der leukämischen Ausschwemmung.*

Wir haben am Anfang dieser Arbeit die Erklärung von K. ROHR angeführt: Der Mechanismus der Zellenausschwemmung aus dem Knochenmark ist bis heute noch ein „Ignoramus“. GUIDO BANTI, auf der Suche nach morphologischen Substraten für seine geniale Anschauung über die neoplastische Natur der Leukämien (was heute ROHR selbst, ohne den Namen BANTI zu nennen, unter den „hämatologischen Gesetzen“ anführt) konnte nach langen Untersuchungen 1905 einige Präparate aus leukämischem Knochenmark zeigen, in welchen einige kleine Gefäße durch die leukämische Proliferation erodiert waren. Er schrieb diesem Faktor die leukämische Ausschwemmung zu, welche für ihn eine wunderbare Bestätigung der hämatogenen Metastasenbildung war. Später jedoch stellte C. D. MARTELLI (1913) fest, daß bei vielen leukämischen Formen die Erosionen an den Wandgefäßen des Markes nicht vorhanden sind — die Gefäße selbst sind dagegen oft verdickt — und daß die kleinen Erosionen an den Venen, die in einigen Fällen zu sehen sind, keine Erklärung für die enorme Quantität der unreifen, kreisenden



Elemente bieten können, und weiter, daß die beobachteten Übergänge von leukämischen in aleukämische Formen durch die Auffassung von BANTI nicht zu erklären sind, da eine eventuelle Rückbildung des Endothels kaum anzunehmen ist; noch weniger, daß diese Rückbildungen den Röntgenstrahlen, die das Verschwinden des leukämischen Bildes verursachen, zuzuschreiben sei. Er nahm somit an, daß besondere Substanzen unbekannter Natur, die man Actraxine nennen könnte, einen positiv chemotaxischen Einfluß auf die myeloischen und lymphatischen Elemente ausüben, wodurch diese in den Kreislauf treten; und daß andere, chemotaxisch negative, eine Schutzeinrichtung gegen das Eindringen von unreifen Elementen bilden, weshalb man diese Repulsine nennen könnte.

Nach R. ISAACS (1930) ist für das Erscheinen von unreifen Elementen im Blute nicht nur das Knochenmark verantwortlich, sondern auch die außerhalb des Knochenmarks — und zwar besonders in der Leber — vorhandenen leukocytären Proliferationen. ISAACS nahm weiter an, daß um die unreifen Elemente der roten Reihe eine intercelluläre Substanz vorhanden sei, welche sich allmählich während der Zellreifung verflüssigt, worauf sich die Zellen lösen können. Immer in bezug auf die rote Reihe ist angenommen worden, daß die Erythroblasten, welche meistens in Haufen liegen, einen so lange fortschreitenden Druck auf die Capillarwände ausüben, bis sie, unter Verlust des Kernes, unter Spannung und Platzen der Zellmembran in das Gefäßlumen eindringen können (A. CH. DOAN, R. S. CUNNINGHAM und F. SABIN 1925, W. BERGMANN 1930). Weiter würde von F. SABIN und A. CH. DOAN (1928) eine intravasculäre Hämpoese in den „intersinusoidalen Capillaren“ des Markes angenommen, welche gewöhnlich kollabiert sind, sich jedoch unter dem Druck der gereiften Erythroblasten öffnen und somit die roten Zellen in die venösen Sinus des Markes eindringen lassen. A. ALDER (1938) denkt an eine Beziehung zwischen Ausschwemmung und Größe der Erythroblasten; die großen würden bei der anormalen, die kleinen bei der normalen Ausschwemmung in die Blutbahn eintreten. Nach ROHR (1940) verwechselt diese Hypothese die Ursache mit der Wirkung, da es ja das Knochenmark ist, welches Qualität und Zahl der Zellen nach Bedarf der Peripherie liefert und nicht umgekehrt.

K. ROHR (1940) hat mit wirkungsvoller Dialektik die Auffassung vertreten, die unreifen Elemente des Blutes (Myeloblasten, Myelocyten, Erythroblasten, Megakaryocyten) stammten nicht aus dem Knochenmark, sondern seien sämtlich extra-medullärer Herkunft, und zwar stammten sie aus den Organen, die bezüglich der Hämpoese an sekundärer Stelle stehen (Milz, Leber, Lymphknoten). Die Beweisführungen für seine Behauptungen sind, kurz zusammengefaßt, folgende: a) Die geschlossene Struktur der Knochenmarkgefäße, der offene Kreislauf der Milz, die intravasale hepatische Hämpoese; b) die embryonale Phase, in welcher sich die unreifen Zellen befinden (Erythroblasten, Myeloblasten, Myelocyten) hört in dem Moment auf, in dem die embryonale Hämpoese aus der Milz und Leber ins Knochenmark übergeht; c) die hämatischen myeloischen Reaktionen (toxisch-infektiös) und die myeloischen Leukämien werden von makro- und mikroskopischen Veränderungen der Milz und der Leber begleitet; d) es gibt chronische Myelosen, bei welchen nach Bestrahlung ein terminaler myeloblastischer Stoß zustande kommt, bei welchem das Mark normal erscheint, die Milz dagegen voll von Myeloblasten ist; es bestehen weiter Fälle von Leukämien mit aplastischem Knochenmark; e) die Formen von Zellhyperplasie im Mark ohne extra-medulläre Metaplasie bringen keine unreifen Zellen in die Blutbahn (erythroblastisches Knochenmark bei dem hämolytischen Ikterus, Polycythämie ohne Normoblasten in nor-

maler Quantität, wobei das Blut aleukämisch ist); f) die gelegentliche Anwesenheit von Megakaryocyten im Blute im Verlauf der Myelose, eine Anwesenheit, welche durch die Diapedese nicht zu klären ist, sondern nur durch den Durchgang durch präformierte Öffnungen, die in den Knochenmarkgefäßen fehlen; in solchen Fällen findet man in der Milz zahlreiche Megakaryocyten; endlich g) die Tatsache, daß nicht immer eine kräftige myeloische Metaplasie des Markes von der Anwesenheit unreifer Formen im Blute begleitet wird. K. ROHR sagt: „Der Übertritt unreifer Zellformen ins Blut hat zwar die offene Verbindung zwischen Blutgefäßen und Milzstroma bzw. Lebercapillaren zur Voraussetzung, damit es aber zur Ausschwemmung kommt, sind offenbar noch andere Faktoren maßgebend, über die wir noch nicht genügend unterrichtet sind. Dazu gehört wohl auch eine gewisse Loslösung der Einzelzelle aus dem Gewebsverband, ähnlich wie dies normalerweise bei der Zellreifung im Knochenmark stattfindet“ (S. 91).

Wir selbst (durch die erwiesene Freundlichkeit der Direktoren der Universitätskliniken von Parma, Perugia, Pisa, Siena, Professoren M. BUFANO, C. CASSANO, G. DOMINICI, A. FIESCHI, R. MONASTERIO und deren Mitarbeitern Professoren L. BIANCHI, G. OLIVA, F. TRONCHETTI, M. BALDINI, G. GIGLI) haben Serum von leukämischem Blute in Berührung mit dem mit Ringerlösung perfundierten Knochenmark bei unseren Kaninchen bringen können.

Wir zeigen hier einige der Myelogramme, die aus Kaninchen stammen, welche mit Serum einiger typischer klinischer Fälle von Leukämie vorbehandelt wurden.

Perfusion mit Serum einer chronischen Lymphadenose in leukämischer Phase:

Histiocytäre Zellen . . . . .	0,6%	Lymphoblasten . . . . .	1,0%
Hämohistioblasten . . . . .	1,8%	Lymphocyten . . . . .	5,5%
Hämocytoblasten . . . . .	2,4%	Monoblasten . . . . .	0,8%
Unreife Zellen der myeloischen		Monocyten . . . . .	1,7%
Reihe . . . . .	26,2%	Megakaryocyten . . . . .	0,9%
Granulocyten . . . . .	2,1%	Plasmazellen . . . . .	0,8%
Erythroblasten . . . . .	56,2%		

Perfusion mit Serum einer chronischen Myelose in leukämischer Phase:

Histiocytäre Zellen . . . . .	0,8%	Lymphoblasten . . . . .	0,4%
Hämohistioblasten . . . . .	1,2%	Lymphocyten . . . . .	4,1%
Hämocytoblasten . . . . .	1,2%	Monoblasten . . . . .	0,9%
Unreife Zellen der myeloischen		Monocyten . . . . .	1,8%
Reihe . . . . .	52,4%	Megakaryocyten . . . . .	0,4%
Granulocyten . . . . .	1,8%	Plasmazellen . . . . .	0,9%
Erythroblasten . . . . .	34,1%		

Perfusion mit Serum einer chronischen Myelose in leukämischer Phase:

Histiocytäre Zellen . . . . .	0,5%	Lymphoblasten . . . . .	0,8%
Hämohistioblasten . . . . .	1,7%	Lymphocyten . . . . .	13,5%
Hämocytoblasten . . . . .	2,7%	Monoblasten . . . . .	1,1%
Unreife Zellen der myeloischen		Monocyten . . . . .	2,2%
Reihe . . . . .	48,9%	Megakaryocyten . . . . .	0,6%
Granulocyten . . . . .	3,1%	Plasmazellen . . . . .	0,1%
Erythroblasten . . . . .	24,8%		

Bei dem Experiment mit dem lymphatisch-leukämischen Serum beachte man das Bestehen des Einflusses des Serums auf die Ausschwemmung der Knochenmarkgranulocyten und die Integrität des Knochenmarkbildes; bei dem Experiment mit myeloisch-leukämischem Serum die starke Proliferation myeloischer Zellen im Knochenmark des Kaninchens; die Proliferation ist so stark, daß dadurch das entsprechende Bild der granulocytären Ausschemmung verborgen wird.

Wie bei den anderen Untersuchungen sind Abstriche aus der aus der Vena cava abgeflossenen Flüssigkeit angefertigt worden, nachdem das leukämisch-myeloische Serum das vorher mit Ringerlösung durchgespülte Knochenmark der unteren Glieder perfundiert hatte. In diesen Abstrichen sind, abgesehen von Erythrocyten und Granulocyten, zahlreiche unreife Elemente der myeloischen und erythroblastischen Reihe vorhanden. *Es ließ sich sogar die Anwesenheit von Myeloblasten feststellen. Es handelt sich um eine Ausschwemmung leukämischer Art, welche unter unseren Augen ausbricht, verursacht durch die Berührung des leukämisch-myeloischen Serums mit dem mit Ringerlösung vorbehandelten Knochenmark: Sie bricht im selben Augenblick aus, in dem das Serum in Kontakt mit dem Knochenmark kommt.*

Eine kurze Auslegung dieser experimentellen Daten: Das plötzliche Ausbrechen der unreifen myeloischen Zellen im selben Augenblick, in dem das Knochenmark mit dem leukämisch-myeloischen Serum in Berührung kommt, ist ein Phänomen, das einen *eindrucksvollen Parallelismus in den Untersuchungen mit normalem Blutserum findet*; der einzige Unterschied besteht in den Zellen, die sich aus dem Knochenmark lösen und die durch die Abstriche der Perfusionsflüssigkeit festgestellt werden. *Es besteht somit bei beiden Experimenten, die so verschiedene Ergebnisse haben, ein einziger Nenner, welcher nur mit dem Serumfaktor der Ausschwemmung zu identifizieren ist.* Während es zwischen dem Mechanismus der physiologischen Ausschwemmung und dem Mechanismus der *leukämischen Ausschwemmung* einen grundlegenden Berührungspunkt gibt, besteht dagegen eine *Kluft zwischen der letzteren und den leukotischen Gewebsveränderungen, da die Ausschwemmung leukämischen Typs auch in einem normalen Knochenmark in Berührung mit leukämisch-myeloischem Serum — wie es unter unseren Händen geschehen ist — stattfinden kann.*

Unserer ersten, durch obengenannte Untersuchungen begründeten Behauptung können wir mit der folgenden Untersuchung eine weitere Schlußfolgerung anfügen: Nach Perfusion der hinteren Beine mit Ringerlösung wurde auf demselben Wege ein Serum von leukämisch-myeloischem Blut, gemischt mit einem Saponin, um die Oberflächenspannung kleiner zu machen, zugeführt. In den erhaltenen Abstrichen aus dem Sediment der aus der Vena cava während der Serumgabe ab-

fließenden Flüssigkeit sind nur vereinzelte Lymphocyten und sehr wenige Granulocyten zu beobachten. (Rote Blutkörperchen fehlen verständlicherweise wegen der hämolytischen Einwirkung der Saponine.)

Auch dieses Ergebnis, das analog demjenigen bei Verwendung von normalem frischem Blutserum zusammen mit einem Saponin ist (siehe vorangehende Seiten), bekräftigt das *einheitliche Wesen des grundlegenden Mechanismus*, mit dem das normale und das leukämisch-myeloische Serum auf das Knochenmark einwirken.

Aber, wie wir mit Nachdruck bereits erwähnt haben, unsere Studien gelten nicht der Ätiologie der Leukose, sondern dem Ausschwemmungsmechanismus. Zu Unrecht ist der Gedanke oder doch die stillschweigende Annahme verbreitet, daß das leukämische Symptom mit der Leukose zu identifizieren sei (auch F. MAGRASSI macht auf dieses Mißverständnis aufmerksam).

Es gibt sogar bekannte Autoren, die diesen Unterschied nicht beachten und wir werden versuchen zu beweisen, daß manche der daraus resultierenden Schlußfolgerungen, trotz ihrer wirkungsvollen Dialektik, falsch sind.

Gerade die Tatsache, daß *die Ausschwemmung leukämischer Art aus einem normalen Knochenmark entstehen kann* — wie es unter unseren Händen geschehen ist — (*sobald das Mark in Berührung mit einem leukämisch-myeloischen Serum kommt*), beweist, daß *im Gegensatz zur allgemeinen Meinung eine Kluft zwischen den Veränderungen der hämopoetischen Organe und dem Mechanismus des leukämischen Symptoms besteht*.

Man soll entschuldigen, wenn wir, fast als sprächen wir zu Schülern anstatt zu Gelehrten, die uns ihre Aufmerksamkeit zuwenden, nochmals darauf bestehen, unseren Begriff über den tiefliegenden Unterschied zwischen dem Mechanismus der leukämischen Ausschwemmung und den Veränderungen der hämopoetischen Organe in der Leukose festlegen. Der Gedanke VIRCHOWS, welcher der Leukose die Benennung Leukämie gab, ist derartig fest verankert und automatischer Teil unserer Kultur geworden, daß es trotz allem schwer ist, das Symptom der leukämischen Ausschwemmung von der Leukose zu trennen. Doch die leukämische Ausschwemmung oder mindestens die Ausschwemmung von leukämischem Typ tritt sogar im Verlauf toxischer Infektionen auf und verursacht die myeloischen hämatischen Reaktionen der toxischen Infektionen: Nun hat das gewebliche Substrat bei diesen Krankheiten mit der myeloischen Metaplasie nichts zu tun. Ebenso könnten wir an die der Leukämie ähnlichen Befunde bei einigen Formen der Reticuloendotheliose erinnern. Es steht somit — schon durch diese Beobachtungen allgemeiner Pathologie — fest, daß *die leukämische oder zum mindesten alterierte Ausschwemmung der Leukose nicht spezifisch ist; sie ist nur eine Veränderung der physiologischen Ausschwemmung, offenbar durch die*

*Änderung ihres Serummechanismus und nicht durch die leukotische Proliferation verursacht.*

Bei unserer Untersuchung ist es absolut unmöglich, wegen des plötzlichen Auftretens der künstlichen Ausschwemmung leukämischen Charakters an eine Proliferation der normalen Knochenmarkzellen infolge der durch das leukämisch-myeloische Serum erzeugten Reizung zu denken: man wird zu der Annahme gezwungen, es bestünde ein Serumfaktor, der die empfindliche protoplasmatische Schwelle der venösen Markcapillaren aufreißt.

Also wird auch die leukämische Ausschwemmung nicht durch das Selbstübertreten der myeloischen Zellen, welche die Knochenmark-, Leber- und Milzgewebe füllen, verursacht, wie man bisher angenommen hat. Es ist nicht möglich, das von uns künstlich erzeugte Phänomen mit der Leukose zu verwechseln. Noch einmal soll wiederholt werden, daß *unsere Untersuchungen dem Mechanismus der normalen und leukämischen Ausschwemmung und nicht dem ätiologischen Problem der Leukose gelten.*

Man könnte einwenden, daß auch Blutserum von leukämischen Subjekten in aleukämischer Phase, wenn in vivo injiziert, leukämieähnliche Reaktionen verursacht, wie von G. OLIVA und G. TRAMONTANA beobachtet wurde. Dies scheint in der Tat unseren Beweisführungen bezüglich eines Serumfaktors in der leukämischen Ausschwemmung zu widersprechen. Es war nicht möglich, unserer Arbeit auch diese Untersuchung beizufügen, da wir kein leukämisches Subjekt in spontan aleukämischer Phase zur Verfügung hatten. Allerdings wäre dieser Einwand — sollte er formuliert werden — nur formell; zwar kann der Faktor im Serum einer aleukämischen Leukämie im Sinne der leukämischen Ausschwemmung aktiv sein, wenn er in Berührung mit normalem Knochenmark gebracht wird, jedoch noch nicht bei Berührung mit leukotischem Knochenmark. Es paßt zu dem Geschehen in der aleukämischen Phase der Leukose, daß es gerade so sein muß. Offenbar ist, im Gegenteil, bei vielen Leukosen ein gewisses Fortschreiten der Krankheit notwendig, damit nicht nur die hämopoetischen Organe, sondern auch das Blutserum alteriert seien; und nur wenn früher oder später diese Veränderung im Blutserum, d. h. die Umbildung des Faktors der physiologischen Ausschwemmung zu dem Faktor der leukämischen Ausschwemmung vorhanden ist; erst dann können die unreifen Elemente des Blutes sich aus den Geweben, in welchen sie in Haufen liegen, loslösen und in die Blutbahn eintreten.

Wir erlauben uns, festzustellen, daß — trotz der scheinbaren Berührungspunkte — unsere Untersuchungen mit leukämischem Serum nach Technik und hauptsächlichlicher Bedeutung von den obengenannten ausgezeichneten Untersuchungen von M. VOLTERRA, G. OLIVA und C. TRAMONTANA vollkommen verschieden sind. Diese Autoren haben die häma-

tischen Reaktionen durch Injektionen mit Plasma oder Serum von Leukämikern bei Tieren und sogar bei Menschen verursacht; sie haben aber den Faktor der normalen Ausschwemmung ignoriert; als G. OLIVA und Mitarbeiter den Empfängern zur Kontrolle Plasma von normalem Blute injizierten, erhielten sie logischerweise keine hämatischen Veränderungen. Nur die von uns durchgeführten und auf den Mechanismus der Ausschwemmung bezüglichen Untersuchungen — bei welchen das Knochenmark zuerst mit Ringerlösung und dann plötzlich mit normalem Blutserum in Berührung kam — haben die Anwesenheit des Serumfaktors bei der physiologischen Ausschwemmung bewiesen; dies war sowohl von M. VOLTERRA wie auch von G. OLIVA und Mitarbeitern vollkommen unvorhergesehen. Andererseits ist die Erkenntnis des Serumfaktors der physiologischen Ausschwemmung unentbehrlich zum Verständnis der leukämischen Ausschwemmung. Die Untersuchungen der obengenannten Autoren haben zu diesen Schlußfolgerungen geführt: „Im Blute von an myeloischer Leukämie erkrankten Menschen sind Substanzen vorhanden, die bei Tieren, intravenös eingespritzt, ein hämatisches Bild von myeloischer Leukämie transitorisch erzeugen . . .; dies spricht für die Hypothese, daß die leukämischen Prozesse einen hyperplastischen Zustand der hämopoetischen Gewebe, die auf Reizungen chemischer Natur — vielleicht durch alterierten Stoffwechsel der Proteide — ansprechen, darstellen“ (M. VOLTERRA). „Im leukämischen Plasma befindet sich ein humoraler Faktor mit leukocyitärer Aktivität, der ein spezifischer Faktor für jede Form von Leukämie und auch in den aleukämischen Leukämien vorhanden ist. . . . Und man kann nicht ausschließen, daß diese Ergebnisse in direkten Beziehungen zu den von amerikanischen Autoren erhaltenen stehen, welche im Urin von Leukämikern Substanzen isolierten, die die Fähigkeit, am Meerschweinchen myelo-lymphopoetische Reaktionen zu erzeugen, besitzen“ (G. OLIVA und C. TRAMONTANA).

Unsere Untersuchungen setzen die transitorischen leukämieähnlichen Reaktionen, die in vivo durch Injektionen von leukämischem Serum zu erzeugen sind, in ganz anderes Licht; *sie identifizieren die Ursache solcher transitorischer Reaktionen mit dem Serummechanismus der normalen und pathologischen Ausschwemmung und nicht mit der Ätiologie der Leukosen.*

Welcher wesentliche Unterschied besteht zwischen physiologischer und leukämischer Ausschwemmung, da beiden — wie wir bewiesen haben — das Vorhandensein des Serumfaktors gemeinsam ist?

Das normale und das leukämisch-myeloische Serum bewirken durch ihre spezifischen Eigenschaften die Ausschwemmung; die Hitzebehandlung vernichtet die Einwirkung der beiden Seren auf das Knochenmark, mit dem sie in Berührung kommen, obwohl sie trotzdem ihre Serumcharakteristika beibehalten.

Es ist in dieser Richtung, d. h. bei der Untersuchung des Serums — wie wir der Wissenschaft wünschen — mit Sicherheit zu identifizieren, was Mehr und Verschiedenes der Faktor der leukämischen Ausschwemmung vor dem Faktor der normalen Ausschwemmung besitzt.

Unsererseits ist versucht worden, die Formulierung des Unterschiedes zwischen normaler Serumbeschaffenheit und leukämischer Serumbeschaffenheit zu finden. Wir bestehen auf dem Wort „Serummilieu“, weil die beschriebenen Untersuchungen uns auf den Gedanken gebracht haben, daß die verschiedenen mit normalem Serum bzw. leukämischem Serum erzielten Ergebnisse nicht von einem einzelnen Element abhängen, sondern daß der Unterschied in der Gesamtheit bzw. in der Summe der einzelnen Serumkomponenten liegt. Ausgehend von diesem Gedanken erschien uns eine Untersuchung von besonderem Interesse, welche beabsichtigt, nicht so sehr das eigentliche Wesen der einzelnen Serumkomponenten, wie indirekt die strukturellen Serumunterschiede, welche durch die chemisch-physikalischen Eigenschaften kundgegeben werden, festzustellen. Da diese Eigenschaften das gesamte Bild der Serumbeschaffenheit wiedergeben, schienen sie für unsere Zwecke bedeutungsvoller als — wenn auch vollkommene — analytische Daten der einzelnen Komponenten zu sein.

Unter den chemisch-physikalischen Eigenschaften des Serums versprach die Oberflächenspannung von besonderer Bedeutung zu sein, da sie, unter anderem, die empfindlichste, exakte und unmittelbare Resultante des lipo-proteinischen Zustandes des Blutserums ist; das Studium der Oberflächenspannung ermöglicht uns somit, indirekt, zu den Kenntnissen der globalen Zusammensetzung der Kolloide im untersuchten Serum zu gelangen. Es ist bekannt, daß, wenn man mit Hilfe besonderer Technik die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten studiert, welche Substanzen im kolloidalen Zustande enthalten, das sog. „antagonistische Phänomen“ festzustellen ist. Wir erlauben uns, zur Erläuterung dieses Phänomens die Worte zu zitieren, die G. PICCARDI, dessen Kompetenz bekannt ist, 1947 geschrieben hat: „... im Falle der kolloidalen Lösungen ist ein weiteres Phänomen zu beachten; es ist das von LECOMTE DE NOÛY vor etwa 20 Jahren beschriebene, sog. antagonistische Phänomen“.

Wenn man auf die Oberfläche des reinen Wassers Natriumoleat ausschüttet, so erhält man eine *dauerhafte Verkleinerung* der Oberflächenspannung (das Natriumoleat ist eine typisch batotone Substanz).

Schüttet man aber das Natriumoleat anstatt auf Wasser auf Blutserum aus, so wird die Oberflächenspannung plötzlich kleiner, sie steigt nach und nach wieder an und erreicht nach einigen Minuten ihre Ausgangswerte. Der ansteigenden Phase der Oberflächenspannung wurden verschiedene Namen gegeben: Erhöhung, Erholung usw. Nach LECOMTE DE NOÛY hängt dieses Phänomen von der Tatsache ab, daß die Micellen der im Serum vorhandenen Proteine das Natriumoleat aufnehmen und es der Serum-Luftoberfläche entziehen. Es handelte sich somit um eine Adsorption der inneren Oberfläche des Kolloids.

Es ist also evident, daß das Auftreten eines Unterschiedes in der lipo-proteinischen Zusammensetzung des Serums, unter Modifizierung der Adsorptionseigenschaft des Serums selbst gegenüber einer zugesetzten spannungsaktiven Substanz, das antagonistische Phänomen durch Sättigung aller kolloidalen im Serum vorhandenen Micellen mehr oder weniger rasch löscht.

Somit ist es möglich durch das Studium der Adsorptionseigenschaften des Serums in bezug auf eine spannungsaktive Substanz, über die quantitativen Unterschiede dieser Adsorption zu der indirekten Kenntnis der globalen Zusammensetzung der Kolloide im Serum selbst zu gelangen.

Dem verehrten Herrn Prof. GIORGIO PICCARDI, Direktor des Chemisch-Physikalischen Institutes der Universität Florenz und seinem Mit-

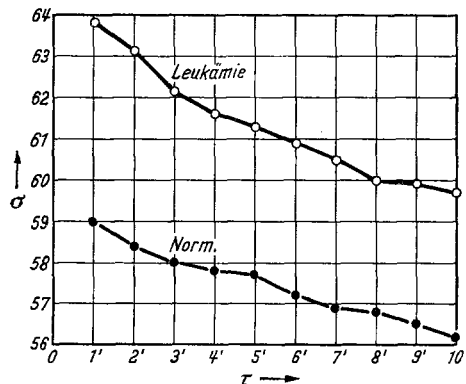


Abb. 4. Die graphische Darstellung zeigt den Abfall der Oberflächenspannung in den verschiedenen Zeiteinheiten des leukämischen Serums bzw. des normalen Serums. Der Anfangsunterschied bleibt bei den darauffolgenden Messungen so gut wie unverändert.

arbeiter Dr. FERRONI verdanken wir eine analytische Arbeit, die es uns erlaubt hat, die chemisch-physikalischen Werte festzustellen, welche wir hier mitteilen werden.

Als erstes wurde die Oberflächenspannung von 2 Blutseren normaler Personen und diejenige zweier Seren von an chronischer Myelose im leukämischen Stadium erkrankten Personen gemessen. Die Oberflächenspannung der verschiedenen Seren wurde unter Berücksichtigung der bekannten Tatsache, wonach die Spannung selbst sich in der Zeiteinheit ändert, gemessen<sup>1</sup>.

Wir legen hier, als Beispiel, die graphische Darstellung der Werte der Oberflächenspannung eines normalen und eines leukämischen Serums mit den Änderungen in der Zeiteinheit bei (Abb. 4).

<sup>1</sup> Es ist bekannt, daß die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit vom Alter der Oberfläche abhängig ist, d. h. die 1. Messung ergibt meist höhere Werte, was durch die Mischung der Moleküle verursacht wird; letztere neigen, wenn die Lösung sich in Ruhe befindet, dazu, der Oberfläche gegenüber, eine feste Lage nach ihren eigenen Charakteristika einzunehmen. Man sollte bei jeder Untersuchung eine Kurve über die Werte der Oberflächenspannung in der Zeiteinheit aufstellen.



Bei den 2 normalen, nicht verdünnten Seren betrug die Oberflächenspannung um 59 Dyn/cm; es handelt sich um vollkommen normale Werte. Bei einem der 2 leukämischen Seren betrug die Oberflächenspannung um 63,75 Dyn/cm und bei dem anderen um 62,25 Dyn/cm. Die graphische Darstellung der Oberflächenspannung bei den verdünnten Seren zeigt, daß das Kleinerwerden der Oberflächenspannung in der Zeiteinheit in den beiden Seren parallel vor sich geht; wenn das Gleichgewicht erreicht ist, bleibt immer ein Unterschied von mehr als 3 Dyn/cm. *Die Oberflächenspannung der Seren von an chronischer Myelose im leukämischen Stadium erkrankten Individuen übersteigt die Oberflächenspannung der Seren von normalen Individuen um 3,25—4,75 Dyn/cm.* Dieser Unterschied überschreitet weitgehend die individuellen Schwankungen der Oberflächenspannung bei normalen Seren (O. KUENZEL 1941).

Bei dieser ersten Untersuchung ist das sog. „antagonistische Phänomen“ nicht in Betracht gezogen worden; statt dessen wurde die Adsorptionsfähigkeit der verschiedenen Seren in bezug auf eine ganz genau titulierte spannungsaktive Substanz (0,1%ige Lösung von Natriumdioctilsulfonsuccinat, Decerosol OT) studiert.

Zum Zwecke der Untersuchung der Adsorptionsfähigkeit der verschiedenen Seren ist die Oberflächenspannung jedesmal nach wiederholten kleinen Gaben der spannungsaktiven Substanz gemessen worden. Nach jeder Gabe mischte man die zu untersuchende Flüssigkeit, worauf jeweils die Messungen der Oberflächenspannung in der Zeiteinheit, solange das Gleichgewicht wieder hergestellt war, durchgeführt wurden. Auf diese Weise konnte man die Quantität der zugesetzten spannungsaktiven Substanz feststellen, über welche hinaus ein weiterer Zusatz nicht mehr imstande war, die Oberflächenspannung der Flüssigkeit zu ändern.

Auf der folgenden Tabelle sind einige der bedeutendsten Werte, die in der besagten Untersuchung erreicht wurden, gegeben:

Normales Serum	Leukämisches Serum
Verdünnung 1:10 physiologischer Lösung	Verdünnung 1:10 physiologischer Lösung
Ausgangswerte der Oberflächenspannung : 59 Dyn/cm	Ausgangswerte der Oberflächenspannung : 63,75 Dyn/cm
Nach Zusatz von 1,68 cm <sup>3</sup> Decerosol OT 0,1% und nach Schütteln der Flüssigkeit, Oberflächenspannung 40,8 Dyn/cm	Nach Zusatz von 1,69 cm <sup>3</sup> Decerosol OT und nach Schütteln der Flüssigkeit, Oberflächenspannung 34,5 Dyn/cm
Nach Zusatz von 2,9 cm <sup>3</sup> spannungsaktiver Substanz und nach Schütteln Oberflächenspannung 39 Dyn/cm	Nach Zusatz von 2,9 cm <sup>3</sup> spannungsaktiver Substanz und nach Schütteln, Oberflächenspannung 34,5 Dyn/cm
Nach Zusatz von 2,74 cm <sup>3</sup> spannungsaktiver Substanz und nach Schütteln, Oberflächenspannung 35,75 Dyn/cm	Nach Zusatz von 2,74 cm <sup>3</sup> spannungsaktiver Substanz und nach Schütteln, Oberflächenspannung 31,87 Dyn/cm

Aus der Tabelle können wir feststellen, wie der Zusatz von 2,74 der spannungsaktiven Substanz zum normalen Serum seine Oberflächenspannung von 59 Dyn/cm auf 35,75 Dyn/cm herabsetzt. Dieselbe Quantität von spannungsaktiver Substanz den leukämischen Seren zugesetzt, senkt deren Oberflächenspannung von 63,75 bzw. 62,25 Dyn/cm auf 31,87 Dyn/cm. Also, *die kolloidalen Micellen neutralisieren und nehmen — den normalen Seren gegenüber — eine bedeutend kleinere Quantität von der zugesetzten spannungsaktiven Substanz auf.*

Zusammenfassend läßt sich — wenn auch die beschriebene Untersuchung nur ein Orientierungsversuch und eine Aufforderung zu weiteren Untersuchungen ist — nicht verneinen, daß die erhaltenen chemisch-physikalischen Werte beweisen, daß der eingeschlagene Weg der richtige ist; diese erreichten Werte sind eine konkrete Beweisführung unserer Auffassung, wonach *der Unterschied zwischen normalem Serummilieu und dem Serummilieu der Leukämiker einen chemisch-physikalischen Charakter hat.*

Unsere Untersuchungen mit Serum von myeloischen Kranken wurden am Knochenmark durchgeführt, sowohl aus technischen Gründen, wie auch deshalb, weil es die charakteristischen Elemente der physiologischen Ausschwemmung enthält; und andererseits, weil, wie wir schon angedeutet haben, wir überzeugt sind und waren, daß das Problem der leukämischen Ausschwemmung ohne genaue Kenntnis der physiologischen Ausschwemmung nicht zu lösen ist.

Wir wollen nun die Ergebnisse unserer Untersuchungen am Knochenmark im Rahmen der Anschauungen über den *allgemeinen Mechanismus der Ausschwemmung aus den hämopoetischen Organen* besprechen.

Wie bereits erwähnt, war der Sitz der leukämischen Ausschwemmung einmal im Knochenmark (G. BANTI), einmal in der Milz oder in den Lymphknoten und einmal in der Leber (K. ROHR) angenommen. Unsere Untersuchungen beweisen, daß man die Anschauung von K. ROHR nicht vertreten kann, wonach die leukämische Ausschwemmung nur (S. 87 und 127) extramedullären Sitz haben soll. Noch mehr muß jedoch betont werden, *daß der von uns bewiesene, im Serum vorhandene Ausschwemmungsfaktor das Wesen des leukämischen Geschehens aus den lokalen morphologischen Problemen (Knochenmarkgefäße oder spleno-hepatische Gewebe) in das humorale Milieu versetzt: der Serumfaktor ist der Deus absconditus der normalen und der leukämischen Ausschwemmung und er beherrscht sämtliche verbreitete Sitze der normalen und pathologischen Hämatopoese.*

Sowohl die leukotischen Proliferationen mit Erosionen der Gefäßwände im Knochenmark — von BANTI (1905) bewiesen — wie auch das Wimmeln von leukämischen Zellen in den Leber- und Milzherden — von M. ASKANAZY (1911), R. ISAACS (1930), W. BÜNGELER (1932)

beschrieben — behalten somit ihre Geltung. *All dies jedoch wäre ohne Bedeutung für die leukämische Ausschwemmung, wenn nicht der Serumfaktor der Ausschwemmung wäre; genau so wie das Knochenmark die physiologische Ausschwemmung verliert, sobald es sich in Berührung mit Ringerlösung anstatt mit Blutserum oder in Berührung mit durch Hitze inaktiviertem Serum anstatt mit frischem Blutserum befindet.*

Sämtliche von K. ROHR und zum Teil noch früher von C. D. MARTELLI bezüglich der Knochenmarkausschwemmung nach G. BANTI gemachten Einwände ändern ihre Bedeutung gegenüber der Kenntnis dieses Serumfaktors der physiologischen und leukämischen Ausschwemmung.

a) Die Übergänge der leukämischen zu den aleukämischen Formen (von MARTELLI als Einwand gegen die BANTISCHE Anschauung erwähnt) werden verständlich durch das Vorhandensein der Serumfaktoren der leukämischen Ausschwemmung; diese Faktoren können sich im Laufe der Krankheit ändern und dies ist, wegen der bewiesenen Affinität des Faktors der physiologischen Ausschwemmung mit dem Faktor der leukämischen Ausschwemmung, noch leichter anzunehmen. b) Die geschlossene bzw. offene Form der Gefäßsysteme der verschiedenen hämopoetischen Organe kann keinen Einfluß auf die normale und leukämische Ausschwemmung haben, da wir im Knochenmark — welches ohne Zweifel ein geschlossenes Gefäßsystem besitzt — das plötzliche Ausbrechen der Ausschwemmung, sobald das Mark in Berührung mit dem Serum war, beobachtet haben. Scheinbar beeinflussen die Faktoren der Oberflächenspannung auch die geschlossenen Systeme. Das Überwiegen des einen oder anderen Gewebes bei der Ausschwemmung steht, gegenüber dem beherrschenden Serumfaktor, in zweiter Linie. c) Die Tatsache, daß in einer gewissen Zeit des fetalen Lebens, und zwar dann, wenn die Hämapoese aus Leber und Milz ins Knochenmark übergeht, aus dem Kreislauf die unreifen Formen verschwinden, wird sicher durch das entgeltliche Erscheinen des von uns bewiesenen Faktors der physiologischen Ausschwemmung im Blutserum gerade in dieser Phase verursacht. d) Die starken hepato-splenischen Veränderungen bei den myeloischen hämatischen Reaktionen (toxisch-infektiös) und bei den myeloischen Leukämien sind ein sicherer Nachweis der Erkrankung der großen Milz- und Leberorgane, dieser Nachweis bezieht sich jedoch verständlicherweise auch auf das Blutserum selbst; somit bleibt auch in diesen Fällen die pathologische Ausschwemmung im Rahmen der Serumveränderung; Organveränderungen und Serumveränderungen sind somit gleichwohl ein Ausdruck der in Mitleidenschaft gezogenen Gewebe und Säfte bei den toxisch-infektiösen und leukämischen Krankheiten. e) Das Fehlen des Serumfaktors der pathologischen Ausschwemmung genügt, um das Fehlen der unreifen Zellen im Blute im Verlauf der Polycythämie, des hämolytischen Ikterus usw. trotz der Knochenmarkzellenhyperplasie

zu erklären. f) Endlich bildet das Fehlen von leukämischen Befunden in Phasen, bei welchen schon eine starke myeloische Metaplasie vorhanden ist, eine bedeutende Beweisführung — die von der allgemeinen Pathologie der Leukose gegeben wird — für alles, was wir mit den Experimenten bewiesen haben; *der Faktor der Ausschwemmung ist im Blutserum enthalten; solange dieser Faktor der normalen Ausschwemmung besteht, bleiben die unreifen myeloischen Zellen in den Organen; die Knochenmarkschwelle selbst hält sie an und läßt sie nicht in den Kreislauf eintreten, was auch bei unseren Untersuchungen, wenn Ringerlösung oder mit Hitze vorbehandeltes Serum durch die Knochenmarkgefäße kreiste, der Fall war; die Knochenmarkschwelle wurde dagegen aufgerissen, sobald das leukämische Serum sie erreichte.*

#### Zusammenfassung.

Als erstes wurde die experimentelle Abtrennung des Blutkreislaufs des Oberschenkels bzw. der Milz vom Kreislauf durchgeführt. Darauf, nach Perfusion mit Ringerlösung, wurden am lebendigen Kaninchen die hämopoetischen Organe in Berührung mit normalem und leukämischem Serum gebracht. Es wurden am Sediment der abfließenden Flüssigkeit und an den Knochenmarkabstrichen cytologische Untersuchungen durchgeführt, um festzustellen, welche Zellen an der Ausschwemmung aus dem Knochenmark bzw. aus der Milz teilnehmen, wenn die Organe mit den verschiedenen normalen oder leukämischen, frischen bzw. alterierten Seren, oder sogar mit Fraktionen der Seren selbst in Berührung kommen.

Es folgten, zur weiteren Klärung der bewiesenen experimentellen Phänomene, einige Probeuntersuchungen über die physikalisch-chemischen Unterschiede zwischen normalen und leukämischen Seren.

1. Die physiologische Zellausschwemmung wird nicht durch emigratorische Eigenschaften der hämatischen Zellen, sondern durch das Serummilieu verursacht; es ist das Blutserum, welches den unentbehrlichen Faktor für das Zustandekommen der spezifischen physiologischen Ausschwemmung aus dem Knochenmark bzw. aus den lymphatischen Organen besitzt.

2. Das Serum des leukämischen Blutes enthält den Faktor der leukämischen Ausschwemmung, wie das normale Serum den Faktor der physiologischen Ausschwemmung enthält.

3. Die Anwesenheit von unreifen Zellen im Kreislauf hängt nicht von dem selbständigen Übertreten der myeloischen Zellen, welche die Knochenmark- und spleno-hepatischen Gewebe füllen, ab, sondern von dem früher oder später erfolgten Übergang des Serumfaktors der normalen Ausschwemmung in den Serumfaktor der leukämischen Ausschwemmung durch Einfluß der leukotischen Krankheit.

4. Der Faktor der normalen und der der leukämischen Ausschwemmung scheinen nicht in einer einzelnen Serumfraktion enthalten zu sein, sondern sie sind an den chemisch-physikalischen Komplex des normalen bzw. des leukämischen Serums gebunden.

5. Die Unterschiede zwischen normalem und leukämischem Serummilieu haben chemisch-physikalischen Charakter; als erster Beweis möge die Tatsache dienen, daß die Oberflächenspannung der leukämischen Seren höher als die der normalen Seren ist; weiter, daß in den leukämischen Seren die kolloidalen Micellen eine viel geringere Quantität von einer zugesetzten spannungsaktiven Substanz aufnehmen und neutralisieren als im normalen Serum.

6. Der von uns bewiesene Ausschwemmungsfaktor im Serum ver setzt das Wesen der leukämischen Ausschwemmung aus den lokalen morphologischen Problemen (Knochenmarkgefäße oder spleno-hepatische Gewebe) in das humorale Milieu; der Serumfaktor ist der Deus absconditus der normalen und der leukämischen Ausschwemmung und beherrscht sämtliche verbreitete Sitze der normalen und pathologischen Hämpoese.

### Literatur.

- ALDER, A.: *Klin. Wschr.* **1938**, 413. — ASKANAZY, M.: *Virchows Arch.* **205**, 371 (1911). — BANTI, G.: *Anatomia Patologica*, Bd. I. Milano: Soc. Libreria 1907. BARGMANN, W.: *Z. Zellforsch.* **11**, 1 (1930). — BIANCHI, C.: *Ist. Bioter. Carlevaro, Parma* **1951**. — BUENGELER, W.: *Klin. Wschr.* **1932**, 1892. — COSTA, A., e P. L. CIPRIANI: *Arch. „De Vecchi“ (Firenze)* **17**, 329 (1951). — DOAN, A. C., R. S. CUNNING. HAM and F. SABIN: *Carnegie Inst. Publ.* **83**, 163 (1925). — FERINGA, K. J.: *Nederl-Tijdschr. Geneesk.* **67**, 408 (1923). — *Arch. ges. Physiol.* **199**, 365 (1923); **200**, 159 (1923); **203**, 672 (1924). — HAEBLER, C.: *Physikalisch-chemische Probleme in der Chirurgie*. Berlin: Springer 1930. — HAEBLER, C., u. C. WEBER: *Klin. Wschr.* **1930**, 760. — ISAACS, R.: *Fol. haemat. (Lpz.)* **40**, 395 (1930). — KUENZEL, O.: *Erg. inn. Med.* **60** (1941) (Monographie). — LECOMTE DE NOÛY: *Equilibres superficiales des solutions colloïdiales*. Paris: Masson & Co. 1929. — MAGRASSI, F.: *Semaine Hôp.* **26** (1930). — MAGRASSI, F., G. LEONARDI, G. NEGRONI e A. TOLU: *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **26**, 302 (1950). — MAGRASSI, F., G. NEGRONI, A. TOLU e G. MARRAS: *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **26**, 1048 (1950). — MARTELLI, C. D.: *Le malattie del sangue e degli organi emopoietici*. U.T.E.T. Torino 1913. — OLIVA, G., e C. TRAMONTANA: *Policlinico, Sez. med.* **57**, 173 (1950). — *Schweiz. med. Wschr.* **1950**, 306. — PENTIMALLI, F.: *Riforma Med.* **40**, 817 (1924). — *Virchows Arch.* **275**, 193 (1929). — PICCARDI, G., e E. FERRONI: *Sperimentale, Sez. bioch.* **1**, 181 (1950). — ROHR, K.: *Das menschliche Knochenmark*. Leipzig: Georg Thieme 1940. — SABIN, F., and A. C. DOAN: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **25**, 121 (1928). — VOLTERRA, M.: *Accad. Med. Fis. Fior.*, 15. Mai 1930. *Sperimentale* **84**, 70 (1930).

Prof. Dr. ANTONIO COSTA,

Direktor des Pathologischen Institutes der Universität Florenz, Italien.