

Aus dem Pathologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf  
(Direktor: Prof. Dr. med. H. MEESSEN)

## Die Wirkung des Blutverlustes und des akuten Saponin- Versuches auf die Myelopoese des Kaninchens

Von

OTTO FRESEN und MARIA LIERENFELD

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. August 1955)

### I. Einführung und Fragestellung

Bei der im Vergleich zur initialen Blutzellentstehung umgrenzten und für die einzelne Zellart topistisch festgelegten definitiven Hämo-  
poese wird für jede heterotope Anhäufung von Blutzellen neben ätio-  
logischen, weil für die Therapie wesentlichen Überlegungen die Proble-  
matik ihrer Histogenese offenbar. Die hier dargelegten ersten orien-  
tierenden Untersuchungen am Kaninchen wurden angeregt durch die  
unterschiedliche Deutung, die das ortsungewöhnliche herdförmige Auf-  
treten der myeloischen Blutzellen, der Granulocyten, beim Menschen  
findet. Hierbei geht die wesentliche Fragestellung nach dem Modus  
dieser extramedullären Myelopoese, deren allgemein gebräuchliche  
Bezeichnung als „myeloische Metaplasie“ vorerst noch einer formal-  
genetisch entsprechenden, allgemein gültigen Begründung entbehrt.

In diesem Sinne wurden myeloische Herde mit den verschiedenen Entwick-  
lungsstufen der Granulocyten vorwiegend in Leber, Milz und Lymphknoten  
festgestellt bei Infektionen [ACHOFF (a), HERZENBERG (a), SSYSSOJEW (a) BRAND-  
BERG], bei der perniziösen Anämie (ZIEGLER, ELLERMANN), in der Erholungsphase  
der Agranulocytose und Panmyelophthise (SCHULTEN, APITZ), bei dem Fankoni-  
Syndrom (ROHR) und der myeloiden Splenomegalie (Lit. bei MATOUSEK u.  
KRONDL), im Verlaufe markverödender Prozesse wie der Osteosklerose (HÄSSLER  
u. KRAUSPE) und Myelosklerose (HITTMAIR, WYATT u. SOMMERS) und bei aus-  
gedehnter Metastasierung maligner Tumoren in das Skelettsystem (SCHENK, SEE-  
MANN u. KRASNOPOLSKI, SONNENFELD, MÜLLER); auch eine isolierte, anschei-  
nend spontane Myelopoese in der Milz konnte autoptisch beobachtet werden  
(LEVINSON u. LIMARZI). Schließlich ist das anatomische Substrat der Myelose  
der potenzierte Ausdruck einer derartigen Heterotopie und Dystopie differen-  
zierter Granulocyten.

Diese als biologische Variante und unter pathologischen Bedin-  
gungen beobachtete myeloische „Metaplasie“ tritt zwar außerhalb des  
Markes, aber doch noch innerhalb der Blutbahn und in den Lymph-  
knoten, also in dem für die Leukocyten als adäquat angesehenen Lebens-  
raume auf, dessen anatomische Grenzen auch von der Myelose zunächst  
noch eingehalten, dann aber infolge ihrer maligne-neoplastischen Pro-  
gredienz wahllos durchbrochen werden. Für diese extramedulläre

Myelopoese, deren nosologische Bewertung als reaktiver oder autonomer Prozeß nichts über die formale Genese aussagen kann, wird seit PAPPENHEIM die ortsgebundene, direkt metaplastische Entstehung angenommen (NAEGELI), oder mit ASKANAZY eine Bildung aus verschleppten markständigen Blutzellen im Sinne einer „inneren Transplantation“ vertreten (HELLY).

Da die gestaltliche Betrachtung und Beurteilung human-pathologischer Veränderungen fast ausschließlich nur am augenblicklich erfaßten, nicht reproduzierbaren Zustandsbilde möglich sind, wurde wiederholt versucht, im *Experiment* durch eine lokale oder allgemeine Beeinflussung des physiologischen Ablaufes der Hämoopoese diese Alternative im Sinne der metaplastischen oder der kolonisatorischen Genese der extramedullären Myelopoese abzuklären.

Die ältere Literatur ist bei WERZBERG nachzulesen.

Die von HERZOG (a) nach *lokaler Reizung* mit Schwammstückchen und Kieselgur im Netz des Meerschweinchens und Kaninchens beobachtete örtliche extravasale Entwicklung von Granulocyten aus adventitiellen „leukocytoiden Zellen“ (MARCHAND) wurde von SSYSSOJEV (b) an der entzündlichen Reaktion der Nebenniere des Kaninchens auf die Fremdkörperwirkung eines sterilen Colloidinstiftes mit der Bildung myeloischer Zellen innerhalb von 20 Std bestätigt. MALYSCHEW beschrieb nach Stichverbrennung der Kaninchenleber die Transformierung der von der Nekrose abgelegenen Sternzellen über Hämocytoblasten zu jungen myeloiden Formen, die nach Trypanblauspeicherung infolge behinderter Differenzierung der Sternzellen geringfügiger wurde.

Dagegen wurden bei den *die Blutbildung allgemein beeinflussenden Versuchen* sehr differente Ergebnisse im Hinblick auf die beabsichtigte Erzeugung einer extramedullären metaplastischen Myelopoese erzielt. Nachdem BIZZOZERO und SALVIOLI (1879) in der Milz anämisierter Meerschweinchen und Hunde Erythroblasten und FOA u. CARBONE auch megakariocytaire Riesenzellen hatten auftreten sehen ist der *Entblutungsversuch* noch mehrfach aber mit wechselndem Erfolg ausgeführt worden. Während SKORNJAKOFF bei Kaninchen und JAFFÉ bei Mäusen nach relativ großen Blutverlusten eine auch von DOMINICI gesehene „Transformation myeloide“ beschreiben konnten, lehnen ITAMI, BLUMENTHAL u. MORAWITZ, LIVADAS und in jüngster Zeit auch OMURA u. OSOGOE eine zur Entstehung extramedullärer Herde führende Beeinflussung der Blutzellbildung ab. DIECKMANN erreichte mit der *Proteusinfektion* carmingspeicherter Kaninchen besonders in den Sinusoiden der Milz eine Ablösung der Uferzellen, deren granuläre Weiterdifferenzierung für eine „indirekte Myelometaplasie“ sprechen würde, die BÜNGELER u. WALD und GERLACH nicht eintreten sahen. Nach SIEGMUND und APTIZ sollen die vacuolisierten und granulierten Sternzellen des mit *B. coli* infizierten Kaninchens zu Granulocyten werden. Das benzolvergiftete, *aleukocytär* gemachte Kaninchen bildet nach SILBERBERG keine Granulocyten aus den Sternzellen, während GALL dabei eine ausgedehnte extramedulläre Hämoopoese beschrieb; auch GRUBER fand nach Röntgenbestrahlungen des Knochenmarkes entmilzter Kaninchen Blutbildungsherde in den Lebercapillaren. BÜNGELER argumentierte gegen die Ansicht v. MÖLLENDORFFS einer entzündlich verursachten örtlichen mesodermalen Leukopoese mit seinen an Mäusen und Kaninchen erhobenen Befunden, nach denen das Erscheinen der Leukocyten am Orte der Entzündung abhängig ist von der Verteilung der Bluteukocyten. UHER,

der mit Galle, Olivenöl und Benzpyren eine Anhäufung myeloischer Zellen in Milz und Leber von Maus, Ratte und Kaninchen hervorrief aber keine leukämieartigen Veränderungen eintreten sah, äußerte sich über ihre Entstehung ebenso wenig wie MEYER u. SAWITSKY, die mit verschiedenen, offenbar spezifisch wirkenden *Extrakten aus der Rinderleber* eine Hyperplasie sowohl der myeloischen Blutzellen als auch der Lymphocyten nicht nur in Milz, Leber und Lymphknoten, sondern auch im Rindengebiet der Nebenniere und der Niere des Meerschweinchens erzeugten. Bei mit *Blutgiften* behandelten Mäusen hielt JAFFÉ eine autochthone Bildung der myeloischen Herde in den Sinusoiden von Milz und Leber für nicht ausgeschlossen. LIVADAS sowie OMURA u. OSOGOE wollen nach ihren Experimenten am Kaninchen die von E. MEYER u. HEINEKE und von DOMARUS beschriebene heterotope Myelopoese metaplastischer Natur ausgeschlossen wissen. Dagegen vertritt LANG (a) auf Grund seiner an unter Saponin stehenden Kaninchen erhobenen Befunde eine Entstehung myeloischer Blutzellen in den Follikeln und Marksträngen der Lymphknoten aus carminspeichernden Zellen, die CUSTER besonders für die gleichzeitig auftretenden megakaryocyten Riesenzellen betont hat. Auch PENTIMALLI sieht auf Grund früherer (a) und kürzlich veröffentlichter Untersuchungen (b) im reticuloendothelialen System die Matrix der extramedullären Myelopoese, die er in langfristigen Versuchen mit Milch und Milchabbauprodukten am Kaninchen als einen nach Ausdehnung, histologischem und cytologischem Bild leukoseähnlichen Prozeß reproduzierbar hervorrufen und feingeweblich verfolgen konnte. TRANSBØL sowie DOAN, ZERFAS, WARREN u. AMES erreichten mit intramuskulären und intravenösen Injektionen von Ovalbumin bei Kaninchen ähnliche Veränderungen. Bei den von SELYE u. STONE während 52 Tagen mit unreinen corticotropen Extrakten der Schweinehypophyse behandelten Ratten traten an der Rinden-Mark-Grenze der Nebenniere mit Fettgewebe durchsetzte *knochenmarkartige Blutbildungsherde* auf, die aus einer hormonal ausgelösten Transformation der Zellen des braunen Fettgewebes hergeleitet werden. Das Auftreten blutzellbildenden Knochenmarkes im *heteroplastischen Knochen* führt MAXIMOW nach Untersuchungen an der abgebundenen, verkalenden Kaninchenniere auf eine in den Blutcapillaren erfolgende Weiterentwicklung der aus dem Knochenmark eliminierten „lymphocytoiden Stammzelle“, nach LANG (b) des Myeloblasten, zurück; mit zunehmender Proliferation dieses Hämoctoblasten durch heteroplastische, zu einer sprunghaften, übergangslosen blutzelligen Differenzierung führende Teilung soll sie expansiv über das Gefäß hinaus vordringen und dann im Bindegewebe zur Quelle der markartigen Hämo-poese werden. LAPIDARI denkt dabei mehr an eine pluripotente Zelle des Mesoderms. In *Gewebskulturen* des Kaninchenlymphknotens hat MAXIMOW auch eine Evolution myeloischer Zellen aus den Reticulumzellen beobachten können; die gerichtete Ausbildung der polymorphen histiogenen Wanderzelle werde von der jeweiligen Umgebung induziert.

Diese vielfältigen Experimente haben zwar die in letzter Zeit erneut diskutierte (BUSSE-GRAWITZ, HAMPERL) autochthone Granulocytopoese aus histiocytären Elementen im Organismus und in der Kultur des lympho-reticulären Gewebes wahrscheinlich gemacht; aber in ihrer Gesamtheit scheinen die Untersuchungen offenbar noch nicht zu der angestrebten weiteren Abklärung der kausalen und vor allem der formalen Genese der heterotopen Blutzellbildung geführt zu haben. Die bevorzugte und auch in den pathogenetisch so unterschiedlich bewerteten Experimenten beobachtete extramedulläre Anhäufung der

Blutzellen in den Sinusoiden von Leber, Milz und Lymphknoten und damit in einer dem reticulären Stroma des Knochenmarkes zellverwandten Umgebung zeigt eine bei Mensch und Tier topographisch auffällig konstante Parallele zu solchen Provinzen des retothelialen Systems, in denen die fetale Hämpoese auch noch postnatal kompensatorisch bei der unter dem Bilde einer Erythro-Leukoblastose verlaufenden hämolytischen Anämie und vikariierend bei der gleichfalls konnatalen Osteosklerose persistieren kann; auch sind ortsständige genetische Beziehungen in Form der myeloischen Differenzierung oxydasepositiver Sternzellen bei Allgemeininfektionen (SEGMUND) und im Rahmen der Myelose noch jüngst erörtert worden (SCHILLER). In dieser Hinsicht stellen die in den verschiedensten Organen und Geweben angetroffenen spontanen Blutbildungsherde markartigen Gepräges (Lit. bei GIFFEN) ebenso wichtige Befunde dar wie die Feststellung blutzellbildenden Markes im heteroplastischen Knochen (Lit. bei VAN DE HAETERD); sie sind ausnahmslos an Fettgewebe gebunden, das nicht allein im blutbildenden Mark nur in einem „balancement“ (OBERLING), sondern auch in reversibler Transformation zu dem Stroma dieser myeloiden Herde stehen soll (WASSERMANN, DABELOW); dieses aber bildet als gefäßgebundenes Keimgewebe Granulocyten [HERZOG (b)] oder „Hämogonien“ (HUECK) und bedingt mit seiner adventitiellen und subendothelialen histiocytären Indifferenzzone die ubiquitäre Existenz des retothelialen Systems [FRESEN (a)].

So verdichtet sich die mit besonderem Hinblick auf die Verhältnisse beim Menschen entstandene Diskussion um die formale Genese der heterotopen Hämpoese an sich zu der *Frage*, ob dem retothelialen System eine Bedeutung für die offensichtlich seiner Verbreitung folgende extramedulläre, intra- und extravasal auftretende Myelopoese unterschiedlicher Verursachung zukomme. Zu ihrer Untersuchung kann das Zeit-Reihen-Experiment am Tier als kritisch betrachtetes analoges, reproduzierbares Modell für ähnliche oder formal-verwandte human-pathologische Vorgänge nur dann erneut herangezogen werden, wenn die Voraussetzungen eine vergleichende Betrachtung der mit gleicher Methodik bisher erzielten Ergebnisse ermöglichen. Unsere Versuche beschränken sich daher zunächst auf die hämatologischen und histologischen Untersuchungen der Auswirkung des Blutverlustes und der Saponinvergiftung auf die Myelopoese des Kaninchens über einen Zeitraum von 5 Tagen.

## II. Material und Methodik

Die Untersuchungen wurden am Kaninchen durchgeführt, weil 1. die Entblutungs- (DOMINICI, BLUMENTHAL u. MORAWITZ, ITAMI, LIVADAS) und Saponinversuche (LANG, LIVADAS, CUSTER, OMURA u.

OSOGOE) mit ihren unterschiedlichen Ergebnissen hinsichtlich der Erzeugung und pathogenetischen Deutung extramedullärer myeloischer Herde fast ausschließlich an diesem Tier vorgenommen worden sind, und daher vergleichbare Befunde vorliegen; 2. unter gewöhnlichen Bedingungen weder unreife myeloische Zellen im Blute auftreten noch extramedulläre Blutbildungsherde, mit gelegentlicher Ausnahme im Thymus, vorhanden sind (JAFFÉ); 3. die Art der Blutzellbildung bei Mensch und Kaninchen weitgehend übereinstimmt (ASKANAZY), und 4. weil nach vergleichenden Untersuchungen eine für die kritische Auswertung des Tierversuches ausreichende Identität bezüglich der Lokalisation, Struktur und Funktion des retothelialen Systems bei Mensch und Kaninchen besteht [Lit. bei FRESÉN (a).]

Die Wirkung des *Blutverlustes* auf die Myelopoese wurde an 4 gesunden, nicht ausgewählten Kaninchen untersucht. Nach Anfertigung des initialen Blutbildes wurden bei K 147 und K 148 durch Herzpunktion einmal 30 cm<sup>3</sup> Blut entnommen. Die Versuchsdauer betrug bei K 147 36 Std, bei K 148 72 Std. Bei K 477 und K 192 wurden 48 Std und 96 Std nach der 1. Herzpunktion nochmals 30 cm<sup>3</sup> Blut abgenommen, so daß diese beiden Tiere innerhalb der Versuchsdauer von 120 Std 90 cm<sup>3</sup> Blut verloren. Der Blutstatus wurde nach 3, 6, 12 Std und weiter im Abstand von 12 Std bestimmt. Das allgemeine Verhalten dieser 4 Entblutungstiere war während des Versuches unauffällig (Gruppe I).

Im *Saponinversuch* standen 15 gesunde, nicht ausgewählte Kaninchen. Nach Anfertigung des initialen Blutbildes wurden auf Grund der Befunde an den anämisierten Tieren zunächst 30 cm<sup>3</sup> Blut durch Herzpunktion gewonnen, anschließend 2 cm<sup>3</sup> einer 1‰igen Lösung von Saponin in physiologischer Kochsalzlösung, entsprechend 2 mg Saponin, je Kilogramm Körpergewicht in die Ohrvene langsam ohne Schaumbildung injiziert und der Blutstatus nach 1, 3, 6, 12 Std und weiter im Abstand von 12 oder 24 Std bestimmt (Gruppe II).

Die hinsichtlich der Myelopoese unspezifische toxische Wirkung der einmaligen, im allgemeinen subletalen Dosis des Saponins trat, nach dem Verhalten der Tiere zu urteilen, innerhalb von 3 Std auf und klang nach ungefähr 48 Std unter deutlicher Besserung des Allgemeinbefindens ab. Leider sind in diesem Zeitraum trotz gleicher Versuchsbedingungen 7 Tiere (K 514, K 410, K 432, K 453, K 473, K 472 und nach 72 Std K 408) interkurrent verendet; außer einer zum Teil hohen Leukocytose zeigten sie als Folge einer offenbar erhöhten Giftempfindlichkeit unterschiedlich ausgedehnte Blutungen in der Leber und kleine hämorrhagische Nekrosen in der Nebennierenrinde. Da sich aber im Hinblick auf die Fragestellung auch bei diesen Tieren noch vergleichbare Veränderungen fanden, verteilt sich die histologische Befunderhebung auf Intervalle von 1 Std (K 456), 3 Std (K 440), 6 Std (K 439), 12 Std (K 191), 18 Std (K 514), 24 Std (K 433), 36 Std (K 410, K 432, K 453, K 473), 48 Std (K 407, K 472), 72 Std (K 171, K 408) und 120 Std (K 454).

Zur *histologischen Untersuchung* kamen aus beiden Tiergruppen nach Fixierung in Formalin und Zenker-Formol Knochenmark, Leber, Milz, Lunge, mesenteriale Lymphknoten, Netz, Appendix, Hypophyse, Schilddrüse, Thymus, Nebenniere, Niere und Herz und zusätzlich Tonsille, Zungengrund, Speicheldrüse, Pankreas, Hoden und Ovar unter Anwendung der Peroxydasereaktion, der Färbung mit Hämatoxylin-Eosin und nach PAPPENHEIM an 8  $\mu$  dicken Paraffinschnitten sowie der Silberimprägnation zur Darstellung reticulärer Gewebstrukturen in Milz, Lymphknoten und Leber. Ergänzend zu den Befundungen

an Schnittpräparaten, die für die Blutzellendifferenzierung mit der Ölimmersion erhoben wurden, sind bei K 192, K 191 und K 171 luftgetrocknete Tupfpräparate vom Knochenmark sowie von den frischen Schnittflächen der unfixierten Leber und Milz angefertigt worden. Dabei ergab die an den Schnitt- und Tupfpräparaten mehrfach durchgeführte Differenzierung des Knochenmarkes quantitativ und qualitativ korrespondierende Ergebnisse, so daß die cytologischen Auswertungen der Schnittpräparate des in toto gewonnenen und speziell für die kombinierte Blutzellfärbung nach PAPPENHEIM lebensfrisch in Zenker-Formol fixierten Femurmarkes eine vergleichende Beurteilung ermöglichen. Während die Differenzierung der Tupfpräparate der Leber keine Schwierigkeiten bereitete, wurde von einer Auszählung der Milzausstriche abgesehen, weil die für eine qualitative Diagnostik notwendige Sicherheit in der Beurteilung der mit zahlreichen Gewebselementen untermischten Blutzellen nicht mehr gegeben schien. An Paraffinschnitten des Knochenmarkes wurde aus 10 unterschiedlich dichten hämopoetischen Bezirken die Anzahl der Zellen in einem Quadratmillimeter bestimmt; in der Leber wurden in 10 Blickfeldern die Leukocyten in den Sinusoiden eines Quadratmillimeters gezählt.

### III. Befunde

Zur vergleichenden Betrachtung der charakteristischen und für die Fragestellung wichtigen Befunde sind in Tabelle 1 die *hämatologischen Daten* soweit wiedergegeben, daß sie mit den zugehörigen unter A und B protokollierten histologischen Veränderungen beispielhaft sowohl das Ausmaß der Beeinflussung der Myelopoese als auch den Ablauf der Versuche an anämisierten (Lfd. Nr. 1 und 2) und saponinbehandelten Kaninchen (Lfd. Nr. 3—10) erkennen lassen.

In der Spalte „*Blutbilder*“ versteht sich die Anzahl der Erythrocyten in Millionen. Die normale Leukocytenzahl liegt beim Kaninchen relativ hoch; als Mittelwert von 19 Tieren wurden 13450 Leukocyten errechnet (vgl. SCHERMER). Die Leukocyten sind zu 100% nach Granulocyten differenziert; eine einzelne Plasmazelle (im initialen Blutbild von K 477) blieb unberücksichtigt. Unter „*Vorstufen*“ sind alle normaliter im peripheren Blut nicht vorkommenden Formen der myeloischen Blutzellreihe, wie Jugendliche, Myelocyten und Myeloblasten zusammengefaßt; die Möglichkeit zu dieser auch für die graphisch-vergleichende Darstellung (s. Abb. 1) sinnfälligen Vereinfachung ergab sich aus der Tatsache, daß der Myeloblast überhaupt nicht auftritt, oder sein Anteil doch nur in 3 Fällen sehr gering ist (K 477, 108 Std 3%; K 192, 84 Std 0,5%; K 454, 48 Std 1,5%, 72 Std 0,5%) trotzdem aber zu vermerken bleibt. Als Erythroblasten sind alle kernhaltigen Formen der roten Blutzellreihe, darunter nicht selten Makroblasten, bezeichnet; ihre Anzahl bezieht sich auf 100 Leukocyten. In der letzten Kolonne der Blutbilder ist die maximale (a) und terminale (b) Anzahl der Leukocyten in Prozent ihres Ausgangswertes (= 100%) angegeben, um die unterschiedlichen absoluten Leukocytenzahlen im Hinblick auf die Auswirkung des einmaligen oder mehrfachen Blutverlustes und des Saponins vergleichen zu können.

In der ersten Kolonne der Spalte „*Knochenmark*“ ist die qualitative Zusammensetzung der myeloischen Elemente einschließlich der Lymphocyten und Monocyten auf 100% angegeben. Zum Vergleich mit den Blutbildern sind die Myeloblasten, Myelocyten und die Jugendformen zur Gruppe der „*Vorstufen*“ vereinigt worden. Plasmazellen, Reticulumzellen, Megakaryocyten und Erythroblasten sind zusätzlich auf 100 Leukocyten gezählt. In der 2. Kolonne ist unter a) die Anzahl aller markständigen Blutzellen einschließlich der Reticulumzellen

eines Quadratmillimeters angegeben. Dieser Wert, unter b) in Prozenten der entsprechenden Zellzahl eines normalen Markes ( $5576 \text{ mm}^2$ ) ausgedrückt, orientiert über die experimentell bedingte Veränderung des Zellgehaltes und gestattet ihren Vergleich bei den verschiedenen Untersuchungszeiten. Das unter c) bestimmte Verhältnis der myeloischen Zellen zu den summarisch als Erythroblasten bezeichneten kernhaltigen Formen der roten Blutzellreihe läßt den quantitativen Wechsel in der Myelo- und Erythropoese des Markes erkennen.

In der Spalte „*Leber*“ ist unter a) die an verschiedenen Stellen der Schnittpräparate ermittelte Anzahl der auf einen Quadratmillimeter entfallenden Leukocyten angegeben. Ihr Prozentsatz zu der in gewissen Grenzen sicher schwankenden Zahl der Granulocyten in der Leber eines gesunden Kaninchens (b) läßt aber über den mittleren Fehler hinaus eindeutig ihre Anreicherung in diesem Organ erkennen; eine Parallele zur Bewegung der Blutleukocyten ist nicht abzulesen. Die Gegenüberstellung (c) der für einen Quadratmillimeter gezählten und gleich „1“ gesetzten Zellen (a) zu dem terminalen Leukocytenwert des betreffenden Tieres ergibt ein bestimmtes Verhältnis, das um so kleiner wird, je mehr Leukocyten die Leber enthält.

Die graphische Darstellung in Abb. 1 erläutert das Prinzip der durch den Blutverlust und das Saponin hervorgerufenen Veränderungen des Blutbildes und des Knochenmarkes. In Abb. 2 ist das Maximum des Anstieges der Leukocyten, in den Gruppen geordnet nach dem Zeitpunkt seines Eintrittes, zusammen mit dem in der Gesamtzahl enthaltenen Anteil der Vorstufen prozentual auf die initiale Leukocytenzahl (= 100%) bezogen worden. Auf der Grundlinie ist das absolute und relative Milzgewicht der Tiere abgetragen.

### Histologische Befunde

#### A

Die an den 4 reinen *Entblutungstieren* (Gruppe I: K 147, K 148, K 477 und K 192) erhobenen und für die Auswertung wesentlichen Befunde sind beispielhaft in den Protokollen von K 148 (Versuchsdauer 72 Std) und K 477 (Versuchsdauer 120 Std) dargestellt.

*K 148.*  $1 \times 30 \text{ cm}^3$  Blut punktiert; Versuchsdauer 72 Std. — *Blutbilder* s. Tabelle 1,1 und Abb. 1. — *Knochenmark:* Zellgehalt s. Tabelle 1,1, Abb. 1. Leichte Hämosiderose der Reticulumzellen. — *Leber:* 100 g. Diffus verfettet. Zellgehalt s. Tabelle 1,1. Sternzellen flach; nur geringgradige Hämosiderose. Periportale Felder zellarm. — *Milz:* 3,5 g. Sinusoide blutreich, mit mäßigem Zellgehalt und gelegentlichen Kerntrümmern. Zellreiche Follikel mit Mitosen im leicht aufgelockerten Zentrum. Hämosiderose der Ufer- und Reticulumzellen. — *Lunge:* Alveolen leer. Die kleinen Arterien und Capillaren stellenweise zellreicher als gewöhnlich. In den Alveolarcapillaren gelegentliche Verklumpung von Zellen und nackten Kernen. Bindegewebige Septen und lymphatisches Gewebe unauffällig. — *Lymphknoten:* Follikel groß, zellreich. Markstränge relativ zellarm. Keine Blutzellanhäufung im Reticulum aber gelegentlich in den Blutgefäßen ohne Mitosen. — *Thymus:* lockere perivasale Herde roter und weißer Blutzellen mit entsprechenden Vorstufen. Capillarendothel flach. — *Hypophyse, Schilddrüse, Nebenniere, Netz, Appendix, Herz, Pankreas, Niere:* unauffällig.

Tabelle 1. *Blutbilder und Zahlenwerte*

Lfd. Nr.	Tier- Nr.	Dauer, Dosis, Gewicht	Blut-							
			Zell- formen	initial	1 Std	3 Std	6 Std	12 Std	24 Std	36 Std
Reine Entblutungs-Tiere	1	K 148	72 Std 1 × 30cm <sup>3</sup> Blut 2,7 kg	Ery. 4,48 Leukoc. 8000 Vorst. 1 Stabk. 2,5 Segm. 26,5 Lymph. 59,5 Mono. 10,5 Erybl. —				3,44 5900 27,5 14 28 27 3,5 34,5	3,76 5400 22 8,5 40 26,5 3 29	3,2 5800 19 8 40 29 4 28
	2	K 477	120 Std 3 × 30cm <sup>3</sup> Blut 3,1 kg	Ery. 5,72 Leukoc. 10400 Vorst. — Stabk. 2 Segm. 45 Lymph. 46 Mono. 7 Erybl. —				3,68 11600 14 16 39 27,5 3,5 17,5	3,76 6400 15 12 35 33 5 25	4,27 10000 9 15 52 22 2 14
Saponin-Tiere	3	K 456	1 Std 1 × 30cm <sup>3</sup> Blut Saponin 2 mg/kg 2,96 kg	Ery. 7,06 Leukoc. 18500 Vorst. — Stabk. 5 Segm. 53 Lymph. 37 Mono. 5 Erybl. —	5,56 8600 5 9,5 36,5 48 1,5 2,5					
	4	K 439	6 Std 1 × 30cm <sup>3</sup> Blut Saponin 2 mg/kg 2,5 kg	Ery. 7,12 Leukoc. 14200 Vorst. — Stabk. 2 Segm. 39,5 Lymph. 54,5 Mono. 4 Erybl. —	6,02 7800 11 11 27 48 3 9		4,96 20600 11 15 47 26 1 25			
	5	K 191	12 Std 1 × 30cm <sup>3</sup> Blut Saponin 2 mg/kg 3 kg	Ery. 5,71 Leukoc. 8700 Vorst. — Stabk. 5 Segm. 37,5 Lymph. 55 Mono. 2,5 Erybl. —		4,35 10500 2,5 13,5 45 37 2 3,5	3,78 7800 6 14 29,5 47,5 3 11,5	3,25 8800 15 13 22 44 6 16,5		



## von Knochenmark und Leber

bilder						Leuko- zahl a) maxim. b) termin. in % der initialen	Knochenmark		Leber
48 Std	60 Std	72 Std	96 Std	108 Std	120 Std		Dif- feren- zierung	a) Zellen/mm <sup>2</sup> (normal 5576) b) Zellen in % normal c) Leuko.: Erybl. (normal 100:32)	a) Zellen/mm <sup>2</sup> (normal 88) b) Zellen in % normal c) Zellen: Blut-Leuko. (normal 1:153)
3,68 6800 14 12 36 34 4 33	2,9 7200 7 10 41 36 6 20	3,0 9000 7,5 11,5 38,5 38 4,5 15,5				a) } 112,5 b) }	normal 33,5 26 12 19 40 39 11 15 3,5 1	a) 10576 b) 189,5% c) 100:79	a) 180 b) 204,5% c) 1:50
4,04 5800 12,5 4,5 24,5 53 5,5 23	3,32 14400 17,5 17,5 24 29 2 33	3,22 14800 11 17 39 31 2 27	3,42 8400 15 13 35 34 3 16	2,20 17200 27 14 34 23,5 1,5 22,5	1,82 15500 17 13 43 23 4 23	a) 165,4 b) 149	38,5 27 24 8 2,5	a) 7104 b) 127,2% c) 100:36	a) 232 b) 263,6% c) 1:66,8
						a) — b) 46,5	22,5 12,5 43 17,5 4,5	a) 5872 b) 105,3% c) 100:39	a) 286 b) 325% c) 1:30
						a) } 145,1 b) }	38 10,5 25 24 2,5	a) 5736 b) 102,8% c) 100:59,5	a) 954 b) 1084% c) 1:21,5
						a) 120,7 b) 101,1	26 12 42,5 16 3,5	a) 6016 b) 107,8% c) 100:66	a) 444 b) 504,5% c) 1:19,8

Tabelle 1.

Lfd. Nr.	Tier- Nr.	Dauer, Dosis, Gewicht	Zell- formen	Blut-							
				initial	1 Std	3 Std	6 Std	12 Std	24 Std	36 Std	
Saponin-Tiere	6	K 433	24 Std 1×30 cm³ Blut Saponin 2 mg/kg 3,4 kg	Ery. Leukoc. Vorst. Stabk. Segm. Lymph. Mono. Erybl.	5,82 18600 — 4,5 36,5 54,5 4,5 —	4,48 8800 6,5 6,5 30 54 3 4,5	4,88 10000 5 7 33,5 52 2 9,5	4,5 12800 7 14 42 34,5 3 22,5	4,52 15800 9 14,5 35 38,5 3 32,5	2,84 16800 16 10 24 48 2 54	
	7	K 432	36 Std 1×30 cm³ Blut Saponin 2 mg/kg 2,5 kg	Ery. Leukoc. Vorst. Stabk. Segm. Lymph. Mono. Erybl.	5,74 19600 — 4,5 35,5 56 4 —					2,3 67600 15 14 30 34 7 40	
	8	K 407	48 Std 1×30 cm³ Blut Saponin 2 mg/kg 3,7 kg	Ery. Leukoc. Vorst. Stabk. Segm. Lymph. Mono. Erybl.	5,94 11800 1 7 37 50 5 —					3,88 14200 11 10 23 54 2 50	
	9	K 171	72 Std 1×30cm³ Blut Saponin 2 mg/kg 2,63 kg	Ery. Leukoc. Vorst. Stabk. Segm. Lymph. Mono. Erybl.	4,5 5530 — 9 39 48 4 —		3,19 6100 7,5 17 50,5 24 1 4,5	3,21 6050 11 12 46 27 4 12	3,09 5400 10 14 40 31 5 12	2,57 9550 9,5 11 32,5 44,5 2,5 40	2,11 11225 15,5 14 31,5 33 6 36
	10	K 454	120 Std 1×30cm³ Blut Saponin 2 mg/kg 2,17 kg	Ery. Leukoc. Vorst. Stabk. Segm. Lymph. Mono. Erybl.	4,96 12800 — 1,5 36 60,5 2 —					3,84 26200 4,5 17,5 36 41,5 0,5 34	

K 477. 3 × 30 cm<sup>3</sup> Blut punktiert (zu Beginn, nach 48 und 96 Std); Versuchsdauer 120 Std. — *Blutbilder*: s. Tabelle 1,2 und Abb. 1. — *Knochenmark*: Zellgehalt s. Tabelle 1,2, Abb. 1 und 3a. Spärliche Hämosiderose der der nicht vermehrten Reticulumzellen. — *Leber*: 123 g. Zellgehalt s. Tabelle 1,2,

(Fortsetzung)

bilder						Leuko- zahl a) maxim. b) termin. in % der initialen	Knochenmark		Leber
48 Std	60 Std	72 Std	96 Std	108 Std	120 Std		Dif- feren- zierung	a) Zellen/mm <sup>2</sup> (normal 5576) b) Zellen in % normal c) Leuko.: Erybl. (normal 100:32)	a) Zellen/mm <sup>2</sup> (normal 88) b) Zellen in % normal c) Zellen: Blut-Leuko. (normal 1:153)
						a) } b) } 90,5		a) 4800  29 9 43 16 3 b) 86 %  c) 100:61	a) 730  b) 827,3 %  c) 1:23
						a) } b) } 344,8		a) 3704  37 16,5 31,5 13 2 b) 68,3 %  c) 100:33	a) 894  b) 1015,9 %  c) 1:75,6
2,28 12200 9,5 9,5 29,5 47 4,5 33,5						a) 120,4 b) 103,4		a) 4488  36 19 29 13 3 b) 80,4 %  c) 100:52,5	a) 414  b) 470,4 %  c) 1:29,4
2,28 11000 14 10 23 49 4 37	2,73 7800 15 10,5 28,5 38 8 27,5	2,51 7350 14,5 9 22 51 3,5 23,5				a) 202,9 b) 132,7		a) 4520  33 13 38 14 2 b) 81,6 %  c) 100:65	a) 316  b) 350,9 %  c) 1:23,2
3,3 36400 24 20 37 18,5 0,5 52,5		2,82 28000 23,5 14,5 35 26 1 82,5	2,4 20200 16 9,5 31 40 3,5 66		2,19 10100 18,5 11 33,5 32 5 66,5	a) 284,4 b) 78,9		a) 7920  32,5 20,5 32,5 12 2,5 b) 141,7 %  c) 100:84	a) 616  b) 700 %  c) 1:16,4

Abb. 4 a. Zentrale Verfettung. Sternzellen flach ohne Mitosen; nur geringfügige Hämosiderose. Periportale Felder ausgesprochen zellarm. — Milz: 2,5 g. Blut-reiche Sinusoide mit zahlreichen reifen und unreifen Blutzellen und flachen Uferzellen. Reticulum mäßig zell dicht. Follikel zellreich. Hämosiderose der

Uferzellen. — *Lunge*: Abb. 7a. Alveolen leer. In den Capillaren umschriebene Bal-  
lungen der Granulocyten, ihrer Vorstufen und nackter Kerne bei flachem Capillar-  
endothel. Bindegewebige Septen und lymphatisches Gewebe unauffällig. —  
*Lymphknoten*: Follikel zellreich. Markstränge relativ zellarm. In den Blut-  
capillaren und auch in den Sinusoiden gelegentlich zu viele reife und unreife Blut-  
zellen; keine Mitosen. — *Thymus*: nur vereinzelte Leuko- und Erythrocyten.

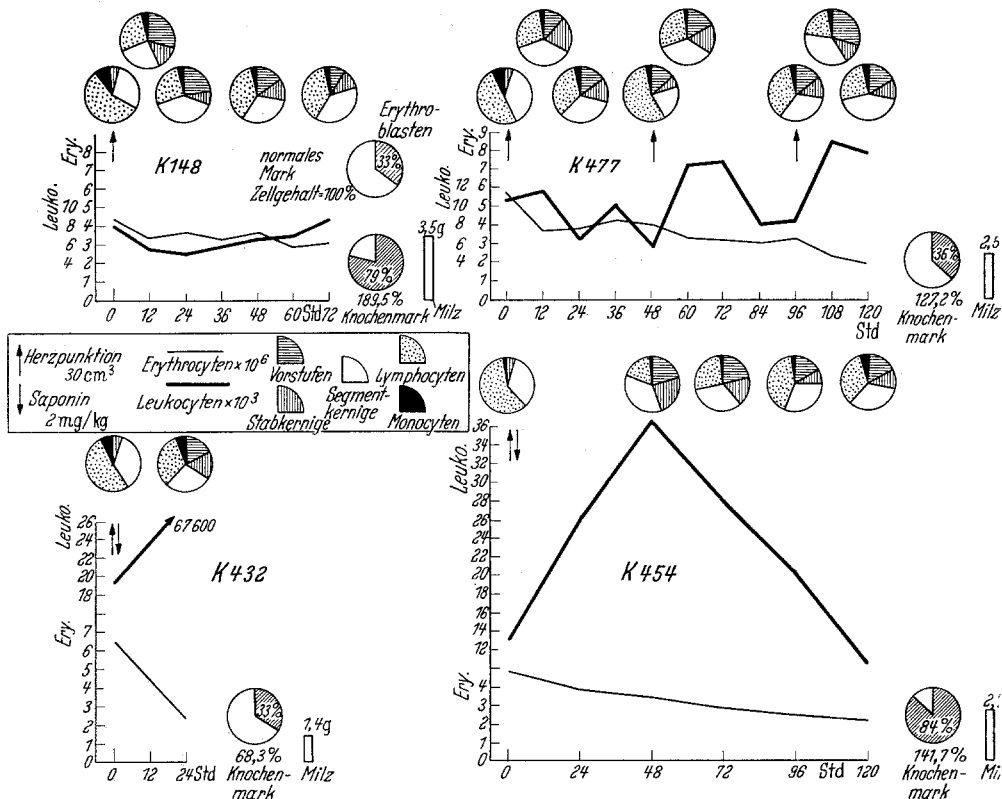


Abb. 1. Beispielhafte Darstellung der wesentlichen Blut- und Knochenmarksveränderungen aus beiden Versuchsgruppen

mit Vorstufen perivascular im interstitiellen Fettgewebe. — *Herz*: vereinzelt kleine Zellenbolien in den Muskelcapillaren. — *Hypophyse*, *Schilddrüse*, *Nebenniere*, *Netz*, *Pankreas*, *Niere*, *Speicheldrüse*, *Appendix*: unauffällig.

## B

Die grundsätzlichen Veränderungen bei den 15 Saponintieren (Gruppe II) lassen sich an den beispielhaften Befunden von K 439 (Versuchsdauer 6 Std), K 432 (Versuchsdauer 36 Std), K 407 (Versuchsdauer 48 Std), K 171 (Versuchsdauer 72 Std) und K 454 (Versuchsdauer 120 Std) verfolgen; sie stellen einen für die Beurteilung der Versuchsauswirkungen ausreichenden Querschnitt der Zeit-Reihenuntersuchungen dar.

K 439.  $1 \times 30 \text{ cm}^3$  Blut punktiert, Saponin 2 mg je Kilogramm intravenös; Versuchsdauer 6 Std. — *Blutbilder* s. Tabelle 1,4. — *Knochenmark*: Zellgehalt s. Tabelle 1,4. Blutreich mit kleinen Blutungen. — *Leber*: 80 g. Zellgehalt s. Tabelle 1,4. Abb. 4b. Vereinzelt kleine frische Leberzellnekrosen. Zentral blutgestaut. Einige periportale Felder locker mit gelapptkernigen Granulocyten durchsetzt, während die Pfortadervverzweigungen, die Sinusoide und die

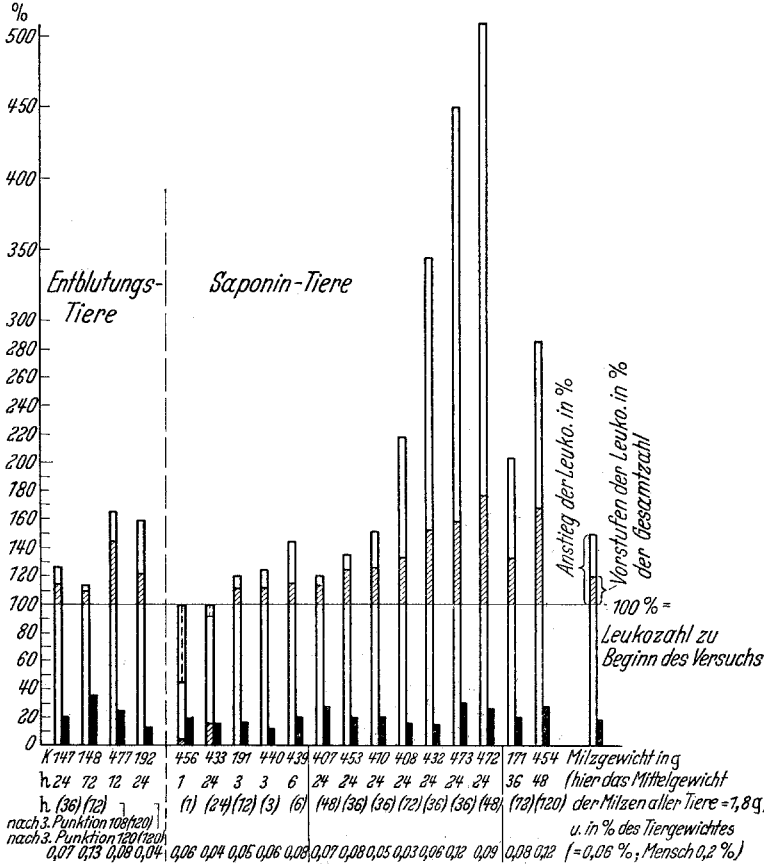


Abb. 2. Gegenüberstellung von Maximalwert der Leuko., Vorstufen und Milzgewicht. Maximaler Leukocytenwert der Tiere, geordnet nach dem Zeitpunkt seines Eintrittes, angegeben in Prozenten des Ausgangswertes der Leuko. mit Berücksichtigung der an ihrem Anstieg beteiligten Vorstufen

Zentralvenen zahlreiche kernhaltige Blutzellen und Vorstufen der roten und weißen Reihe enthalten. Sternzellen außerhalb der Nekrosen flach, nicht vermehrt; kein Hämosiderin. — *Milz*: 1,9 g. Sinusoide blut- und zellreich; Uferzellen flach, nicht vermehrt. Follikel etwas vergrößert und teilweise zentral leicht aufgelockert ohne wesentliche Mitosen und ohne Blutzellen. Keine Hämosiderose. — *Lunge*: Alveolen frei. In den Capillaren, besonders subpleural, zuviel Granulocyten mit Vorstufen und Erythroblasten. Bindegewebssepten und lymphatisches Gewebe unauffällig. — *Lymphknoten*: Follikel kleiner als gewöhnlich. Sinuskatarrh mit polymorphkernigen Granulocyten und Makrophagen. In den Sinusoiden sonst einige Vorstufen der roten und weißen Blutzellen. Uferzellen flach, keine

Ablösung und Verformung. In den Blutgefäßen zahlreiche kernhaltige, vorwiegend myeloische Blutzellen. — *Hypophyse*: In den Capillaren zu zahlreiche kernhaltige Zellen vorwiegend der weißen Blutzellreihe. — *Thymus*: nur spärliche Blutzellherde im interstitiellen Fettgewebe. In den Capillaren reichlich kernhaltige Blut-elemente. — *Nebenniere*: Abb. 8a. Leichte Anhäufung reifer und unreifer Zellen, vorwiegend der myeloischen Reihe, in den Capillaren der Zona reticularis. Sonst unauffällig. — *Schilddrüse*, *Netz*, *Herz*, *Pankreas*, *Niere*, *Appendix*, *Ovar*: bis auf die Blutleukocytose und vereinzelte Erythroblasten unauffällig.

K 432:  $1 \times 30 \text{ cm}^3$  Blut punktiert, Saponin 2 mg/kg intravenös; Versuchsdauer 36 Std. — *Blutbilder* s. Tabelle 1,7 und Abb. 1. — *Knochenmark* siehe Tabelle 1,7, Abb. 1 und 3 b. Vergleichsweise zellarmes Mark, das mit Blutungen durchsetzt ist, in denen die noch vorhandenen Markzellen färberisch nur noch schlecht darzustellen sind. — *Leber*: 120 g. Zellgehalt s. Tabelle 1,7. Regelrecht strukturiert. Zahlreiche kleine frische Blutungen und umschriebene beginnende Leberzellnekrosen. Ödematöse Abhebung der Parenchymzellen von der Wand der Sinusoide, die zahlreiche Granulocyten mit Vorstufen und Erythroblasten enthalten. Sternzellen im Bereich der Leberzellnekrosen und um Zell-emboli herum etwas geschwollen, aber ohne Zeichen einer Proliferation; keine Hämosiderose. Periportale Felder unauffällig. — *Milz*: 1,4 g. Stark blutgestaute Sinusoide ohne besonders zahlreiche myeloische Zellen aber mit einzelnen mehrkernigen, noch relativ kleinen Zellen. Uferzellen zuweilen abgelöst, sonst flach ohne Proliferation und Hämosiderin. Follikel klein, einige zentral aufgelockert. — *Lunge*: Abb. 7b. Alveolen leer. In den Alveolarcapillaren, besonders in den subpleuralen, aber auch in den kleinen Arterien zahlreiche Vorstufen der weißen und roten Blutzellreihe, die oft die Capillaren ganz ausfüllen oder als Kernkonglomerate verlegen und gelegentlich Mitosen aufweisen; darunter ganz vereinzelt eine größere Zelle mit basophilem, nicht granuliertem Plasma und bis zu 4 locker gefügten Kernen. In den Bindegewebssepten und im lymphatischen Gewebe keine Ansammlung reifer und unreifer Blutzellen. — *Lymphknoten*: Follikel klein. Markstränge locker ohne Ansammlung von reifen und unreifen Blutzellen, die in den Blutgefäßen in größerer Zahl zu beobachten sind. — *Hypophyse*: in den engen Capillaren neben gelapptkernigen Granulocyten auch einige Vorstufen und vereinzelte Erythroblasten. — *Thymus*: nur kleine Parenchyminseln in einem Fettgewebe, das vielfach mit frischen Blutungen durchsetzt ist. In den Capillaren des Thymus und des interstitiellen und angrenzenden Fettgewebes zahlreiche Vorstufen der weißen und roten Blutzellreihe. Kein erkennbarer Anhalt für eine extravasale Gruppierung von Blutzellen. — *Nebenniere*: Rindenzellen lipoidreich. In den Capillaren der Rinde, besonders im Bereich der Zona reticularis, embolische Anhäufungen von reifen und unreifen myeloischen Zellen ohne Mitosen, während die Erythroblasten mengenmäßig zurücktreten. — *Netz*: nur innerhalb der Capillaren die Zeichen einer hochgradigen Leukocytose mit unreifen Elementen der weißen und roten Blutzellreihe. — *Niere*: Auch hier zeigen die Glomeruli und gelegentlich noch stärker die intertubulären Capillaren der Rinde eine hochgradige Blutleukocytose mit zahlreichen myeloischen Vorstufen. Hilusfettgewebe unauffällig. Im Lumen der Hauptstücke locker strukturierte Eiweißmassen und einzelne Schatten von Erythrocyten. — *Schilddrüse*: Follikel sind vergleichsweise weniger kolloidhaltig; Epithelien hochkubisch. Sonst einschließlich des Interstitiums unauffällig. — *Herz*, *Pankreas*, *Appendix*, *Ovar*: bis auf die Zeichen der Blutleukocytose regelrecht.

K 407.  $1 \times 30 \text{ cm}^3$  Blut punktiert, Saponin 2 mg/kg intravenös; Versuchsdauer 48 Std. — *Blutbilder* s. Tabelle 1,8 — *Knochenmark*: Zellgehalt siehe Tabelle 1,8. Im Bereich zahlreicher kleiner Blutungen beginnende Nekrose der Markzellen. — *Leber*: 187 g. Zellgehalt s. Tabelle 1,8. Regelrecht strukturiert.

Fleckförmige, unregelmäßig verteilte, frische hämorrhagische Leberzellnekrosen, ohne auffällige leukocytaire Randreaktion. Sternzellen flach ohne Anzeichen für eine Wucherung. Periportale Felder zellarm. In den blutreichen Sinusoiden zahlreiche reife Formen und Vorstufen der myeloischen Reihe sowie einige Erythroblasten mit Anreicherung in den Zentralvenen. Keine Hämosiderose. Gelegentlich vereinzelte megakaryocytaire Riesenzellen in den Sinusoiden ohne erkennbare Beziehung zu den benachbarten, gelegentlich geschwollenen Sternzellen. — *Milz*: 2,7 g. Im ganzen mehr blut- als zellreiche Sinusoide, in denen neben unreifen Formen vorwiegend der weißen und vereinzelt auch der roten Blutzellreihe isoliert einige megakaryocytaire Riesenzellen liegen. Uferzellen flach. In den Sinusoiden nicht so selten plasmafreie Kernfragmente. Follikel relativ klein und teilweise auffällig zellarm. Mäßige Hämosiderose (Abb. 5c). — *Lunge*: Alveolen frei. In den kleineren Gefäßen und besonders in den Capillaren zum Teil sehr zahlreiche kernhaltige Elemente der weißen und roten Blutzellreihe. Reife und unreife myeloische Formen liegen mehrschichtig dem Gefäßendothel auf oder bilden dichte, die Capillaren ausfüllende Zellenboli; daneben beginnende Nekrose der verklumpten isolierten Kerne. Bindegewebssepten und lymphatisches Gewebe ohne reife bzw. unreife Blutzellen. — *Lymphknoten*: Follikel klein, unauffällig. Leichter Sinuskatarrh, Markstränge reich an Lymphocyten; dazwischen kleinste Blutungen. Keine ortsungewöhnliche Anhäufung von Blutzellen. — *Hypophyse*: Die engen Capillaren mit unauffälligem Endothel enthalten stellenweise recht zahlreiche, einzeln hintereinanderliegende Granulocyten, darunter Vorstufen und isolierte Kerne. Parenchymzellen unauffällig. — *Thymus*: gut ausgebildet. Im lockeren, mit Fettgewebe durchsetzten interstitiellen Bindegewebe einige zellarme Herde mit Vorstufen der weißen und roten Blutzellen, die immer wieder perivasculär angeordnet sind. — *Nebenniere*: eine hämorrhagische Rindennekrose. In den tieferen Abschnitten der Rinde, besonders in der Zona reticularis, kleinere, ausschließlich intracapilläre Anhäufungen reifer und unreifer myeloischer Zellen. — *Fettgewebe*: unauffällig. In den Capillaren gelegentliche Anhäufungen vorwiegend myeloischer Blutzellen. — *Schilddrüse*: regelrecht strukturiert, Follikel ausreichend kolloidhaltig. Follikelepithelien flach. In den Capillaren Zeichen der Blutleukocytose. — *Herz*: unter dem Endokard über dem linken Ventrikel eine umschriebene kleine Blutung mit älteren Muskelnekrosen und leichter leukocyitärer Randreaktion. Im spärlichen subendokardialen Fettgewebe umschriebene geringfügige Mobilisierung von Histocyten, darunter einzelne gelapptkernige Granulocyten. Keine Blutzellherde. — *Niere, Speicheldrüse, Appendix, Hoden*: bis auf die Zeichen der Blutleukocytose unauffällig.

*K 171*.  $1 \times 30 \text{ cm}^3$  Blut punktiert, Saponin 2 mg/kg intravös; Versuchsdauer 72 Std. — *Blutbilder* s. Tabelle 1,9. — *Knochenmark*: Zellgehalt s. Tabelle 1,9. Mark zellarm mit zahlreichen und größeren frischen Blutungen durchsetzt, in denen die Markzellen zum Teil noch darstellbar sind. Um die kleineren Gefäße ausgesprochene erythropoetische Regeneration. Megakaryocyten verhältnismäßig zahlreich; im breiten Plasmasaum gelegentlich 2—3 gelapptkernige Granulocyten, die sich stellenweise auch auffällig um die Megakaryocyten anordnen. — *Leber*: 116 g. Abb. 6a und b. Regelrecht strukturiert; peripher verfettet, zentral etwas blutgestaut. Periportale Felder ausgesprochen zellarm, während sich in den Sinusoiden zahlreiche reife aber auch unreife myeloische Zellen neben einigen Erythroblasten und zuweilen gehäuft megakaryocytären Riesenzellen finden. Diese Riesenzellen liegen häufiger in den zentralen als in den peripheren Abschnitten der Sinusoide und lassen keinerlei Beziehungen zu den benachbarten Sternzellen erkennen, die hier geschwollen und auch abgelöst, sonst aber flach und nicht vermehrt sind. An den Riesenzellen und auch in ihrem Plasma immer

wieder einige gelapptkernige Granulocyten; Verklumpung und beginnende Auflösung der Riesenzellkerne, die sich gelegentlich isoliert den Sinusoiden anpassen, so daß bizarre Deformierungen sowohl der Kerne als auch der Riesenzellen selbst entstehen. In den Zentralvenen kernhaltige Reste dieser Riesenzellen, zahlreiche Granulocyten mit Vorstufen und Erythroblasten. Kein Hämosiderin. — *Milz*: 2 g. Abb. 6c. Sehr blutreiche Sinusoide, die neben reifen Formen und Vorstufen der weißen und roten Blutzellen verhältnismäßig zahlreiche megakaryocytaire Riesenzellen enthalten, an und in denen gelapptkernige Granulocyten zu Abbauveränderungen führen. Uferzellen der Sinusoide flach ohne erkennbare Wucherung, Ablösung und Transformierung. Follikel oft zentral aufgelockert, ohne wesentliche Mitosen. Mäßig deutliche Hämosiderose der Uferzellen, keine der Riesenzellen. — *Lunge*: Alveolen leer. Besonders in den subpleuralen Capillaren massive Zellenbolien, darunter auch Riesenzellen bzw. plasmafreie pyknotische Riesenzellkerne. Endothel der Gefäße unauffällig. Die größeren Bindegewebssepten zellarm. Im lymphatischen Gewebe keine Ansammlungen kernhaltiger Blutzellen. — *Lymphknoten*: Follikel klein mit aufgelockertem Zentrum. In den Sinusoiden der Markstränge Lymphocyten und abgelöste Uferzellen; keine ortsfremde Ansammlung von Blutzellen oder ihrer Vorstufen, die in den Bluteapillaren reichlich, im Randsinus spärlich vertreten sind. Kleine Blutungen. — *Hypophyse*: in den schmalen Capillaren relativ zahlreiche kernhaltige Blutzellen besonders der myeloischen Reihe, nur vereinzelte Erythroblasten. Capillarendothel flach. — *Thymus*: gut ausgebildet. Im interstitiellen Fettgewebe nur vereinzelte lockere Gruppen myeloischer und erythrocytärer Elemente mit einigen Vorstufen um kleine Venen. In den Capillaren dagegen zahlreiche kernhaltige Blutzellen. — *Nebenniere*: bis auf embolische Zellansammlungen innerhalb der Capillaren der Zona reticularis, darunter auch Riesenzellen oder isolierte verklumpte Kerne, unauffällig. Capillarendothel ohne jede Reaktion. — *Schilddrüse, Netz, Herz, Pankreas, Speicheldrüse, Appendix, Tonsille, Ovar*: keine extravasalen Blutzellherde. Capillaren der Nieren und Glomeruli etwas zellreicher durch Ansammlung kernhaltiger Blutzellen.

*K 454*.  $1 \times 30 \text{ cm}^3$  Blut punktiert, Saponin 2 mg/kg intravenös; Versuchsdauer 120 Std. — *Blutbilder*: s. Tabelle 1,10 und Abb. 1. — *Knochenmark*: Zellgehalt s. Tabelle 1,10; Abb. 1 und 3c. Verstärkte Erythropoese. Dazwischen kleinste Markblutungen. — *Leber*: 88,5 g. Zellgehalt s. Tabelle 1,10 und Abb. 5a und b. Leicht diffus verfettet. Periportale Felder vorwiegend zellarm. In den Pfortadervverzweigungen zahlreiche kernhaltige Elemente der weißen und roten Blutzellreihe, darunter auch einige Riesenzellen, die sich zusammen mit den reifen und unreifen Formen der Blutzellen in den Sinusoiden wiederfinden, in deren zentralen Abschnitten sie sich zu Emboli zusammendrängen. Deutliche Zeichen der beginnenden Auflösung, besonders der nackten Riesenzellkerne. Sternzellen der Umgebung dabei leicht geschwollen, aber ohne Anhalt für Proliferation oder Transformierung. Bei der Silberimprägnation läßt sich kein Zusammenhang der Gitterfasern der Sinusoide weder mit den Riesenzellen noch mit den anderen reifen und unreifen Blutzellen innerhalb der Sinusoide erkennen. Kein Hämosiderin. — *Milz*: 2,7 g. Blut- und zellreiche Sinus mit relativ zahlreichen Erythroblasten und megakaryocytairen Formen bei flachen Uferzellen. Keine auffälligen Mitosen der Zellen in den Sinusoiden, der Ufer- und Reticulumzellen. Spärliche Hämosiderose. Follikel gewöhnlich groß, recht zellreich, mit gelegentlich leicht aufgelockertem Zentrum aber ohne vermehrte Mitosen und Blutzellen. Die meyoischen Zellen mit pyknotischem Kern; nackte Kerne der Riesenzellen mit fadenförmiger Auflösung. — *Lunge*: Abb. 7c. Alveolen leer; nur an einigen Stellen kleine peribronchiale Entzündungsherde. In den kleineren Arterien und in den Capillaren teilweise massierte Ansammlungen und Verklum-



pungen kernhaltiger Blutzellen aller Formen, darunter sehr viele nackte Kerne und deformierte plasmafreie Riesenzellkerne; das Endothel flach. Im Blut der kleinen Venen relativ weniger kernhaltige Formen der weißen und roten Blutzellen. Besonders in den massierten Anhäufungen innerhalb der Capillaren deutliche Zeichen der Pyknose und Karyolyse ohne Endothelreaktion. Bindegewebige Septen und die übrigen perivaskulären Zonen unauffällig. — *Lymphknoten*: regelrecht strukturiert. In den Marksträngen leichte Mobilisierung der Uferzellen; keine ungewöhnliche Ansammlung von reifen und unreifen Blutzellen. — *Hypophyse*: Abb. 8c. Parenchymzellen unauffällig. In den Capillaren, deren Endothel überall flach bleibt, stellenweise dichte Zellemboli, darunter auch einige weitgehend vom Plasma befreite, mit Granulocyten umgebene, teilweise schon weitgehend aufgelöste Riesenzellkerne. — *Thymus*: nur spärliche und locker gefügte myeloische und erythropoetische Zellen um die Capillaren des stärker entwickelten interstitiellen Fettgewebes. In den Capillaren zahlreiche myeloische Elemente mit regressiven Veränderungen. — *Nebenniere*: Abb. 8b. An der Rinden-Mark-Grenze sind einige Capillaren mit dichten Zellemboli fast ausschließlich myeloischer Elemente angefüllt; darunter vereinzelte stark deformierte, plasmaarme Riesenzellen und isolierte pyknotische Riesenzellkerne, die auch hier von gelapptkernigen Granulocyten umgeben sind. — *Netz*: bis auf kleine offensichtlich embolische Ansammlungen einiger myeloischer Zellen mit Vorstufen in einigen Capillaren völlig unauffällig. Keine Blutzellherde. — *Herz*: in der Wand der linken Kammer ältere Muskelnekrosen, Blutungsreste und gewöhnliches, schon leicht vernarbtes Granulationsgewebe (im Bereich der Punktionsstelle). Keine Blutbildungsherde innerhalb des Granulationsgewebes. — *Niere*: hier gelegentlich noch intensivere Zellemboli in den Glomeruli, vorwiegend aber in den intertubulären Capillaren der Rinde. Tubuli unauffällig. — *Schilddrüse, Pankreas, Speicheldrüse, Ovar*: bis auf kleine Zellembolien innerhalb der Capillaren unauffällig; keine Riesenzellen. Perivaskuläre Zonen ohne pathologischen Befund.

#### IV. Besprechung der Befunde

Der *Einfluß des Blutverlustes* auf die Hämopoese wird zunächst an Veränderungen des *Blutbildes* zu erkennen sein (vgl. Tabelle 1). Der einmalige Verlust von 30 cm<sup>3</sup> Blut führt zu einem Abfall der Erythrocyten, der in den ersten Stunden sicher nicht der tatsächlichen Einbuße an roten Blutkörperchen entspricht, sondern durch die Blutverdünnung mitbestimmt wird, die nach dem akuten Verlust von etwa  $\frac{1}{7}$  der gesamten Blutmenge durch Einstrom von Gewebsflüssigkeit zur Auffüllung des Kreislaufvolumens und Regulierung des onkotischen Druckes der Blutflüssigkeit eintritt. Obwohl schon nach 3—6 Std (K 192, 3 Std 0,5, 6 Std 1,5) und dann vermehrt (K 148) Erythroblasten im peripheren Blut erscheinen, läßt sich eine merkliche Erholung des roten Blutbildes erst nach 36 Std mit langsamer Zunahme der Erythrocyten feststellen (K 147, K 477); sie kann sich aber unter allmählichem Rückgang der Erythroblasten auch über den untersuchten Zeitraum hinaus verzögern (K 148, 72 Std). Daher tritt nach einem innerhalb von 120 Std 3mal im Abstand von 2 Tagen wiederholten Blutverlust eine progrediente Anämie auf; der jeweils auf die Herzpunktion folgende Erythroblastenschub fällt nach der 3. Punktion schon deutlich geringer

aus (K 477, K 192). Auch die Leukocyten fallen infolge des Blutverlustes innerhalb von 6—24 Std ab (K 147, K 148); der akute Sturz, der vergleichsweise bei K 456, K 439 und K 433 schon nach 1 Std bis zu 50% des Ausgangswertes ausmacht, wird bei der an sich geringen Zahl der Leukocyten wohl noch stärker durch die eintretende Blutverdünnung bedingt. Aber im Gegensatz zu dem Verhalten der Erythrocyten kann der Verlust der Leukocyten doch innerhalb von 24 Std ausgeglichen werden (K 147 von 7800 über 5200 nach 12 Std auf 9800). Infolge dieser im allgemeinen rasch eintretenden Reaktion ruft der im Abstand von 48 Std wiederholte Blutverlust eine deutliche, jeweils verstärkte Leukocytose hervor (165,4% bei K 477), die 48 Std nach der zweiten Blutentnahme noch nicht auf den Ausgangswert abgesunken ist (K 477, K 192). Der auf den Blutverlust folgende, nach wiederholter Punktion auch überschießende Wiederanstieg der Leukocyten beruht mehr auf der Zunahme der stabkernigen als der segmentkernigen Granulocyten sowie auf dem Erscheinen sonst nur markständiger „Vorstufen“; ihr Anteil an der Leukocytose wächst mit der wiederholten Blutentnahme unter gelegentlichem Auftreten von Myeloblasten (K 477, 108 Std 3%). Diese auch schon nach dem einmaligen großen Blutverlust zu beobachtende Linksverschiebung der Leukocytenformel (K 148) bleibt noch über die abklingende Leukocytose hinaus bestehen (K 477). Das schnelle Anpassungsvermögen der Leukocyten ist daher zunächst nur als quantitative Regulierung des weißen Blutbildes zu verstehen, der die qualitative Normalisierung folgt.

Im *Knochenmark* liegt eine verstärkte Regeneration der roten und weißen Blutzellreihe vor. Der Zellgehalt nimmt unter entsprechender Reduzierung des Fettgewebes zu; nach einmaligem Blutverlust kann er in 72 Std auf 189,5% ansteigen (K 148) und erreicht damit einen Wert, der außerhalb der durch den vergleichenden Bezug auf die Zellzahl eines gesunden Kaninchenmarkes gegebenen Fehlergrenze liegt. Dabei verschiebt sich das quantitative Verhältnis zwischen den weißen und roten Blutzellen mit 100:79 zugunsten der Erythrocyten. Die Zunahme des Zellgehaltes ist also überwiegend durch die verstärkte Erythropoese bedingt, zumal das Myelogramm 3 Tage nach der Blutentnahme schon wieder eine weitgehend regelrechte Zusammensetzung der myeloischen Zellreihe aufweist. Offenbar führt die intensivierte Regeneration der vergleichsweise langlebigen Erythrocyten mit ihrer auch aus der verzögerten Normalisierung des roten Blutbildes zu schließenden relativ langsamen Ausreifung zu einer Anhäufung von Erythroblasten, während die Entwicklungsstufen der kurzlebigen myeloischen Zellen in verhältnismäßig größerer Anzahl in das Blut übertreten. Dieser Modus der verstärkten Blutzellregeneration bestimmt auch das Verhalten und die zellige Zusammensetzung des Knochen-

markes nach mehrfachem Blutverlust (K 477). 24 Std nach der 3., also 120 Std nach der 1. Punktion beläuft sich der Zellgehalt auf nur 127,2% bei einem praktisch normalen Verhältnis von 100:36 zwischen der Myelo- und Erythropoese. Im Vergleich zu der Erholungsphase nach einmaliger Entblutung aber zeigt jetzt das Myelogramm mit 12,5% Myeloblasten eine deutliche Linksverschiebung als Ausdruck der auch an der Leukocytenformel des Blutes erkennbaren hyperplastischen Myelopoese (Abb. 3a), sie verfügt mit ihrer schnellen Zellbildung über eine größere Reserve als die Erythropoese, die bei langsamerem Ablauf durch die wiederholte zusätzliche Beanspruchung dekompenziert; ihre Insuffizienz wird neben der progredienten Anämie auch am Rückgang der erythroblastischen Reaktion deutlich.

Die graphische Darstellung in Abb. 1 erläutert am Beispiel von K 148 und K 477 das Prinzip dieser durch den Blutverlust hervorgerufenen Veränderungen des Blutbildes und des Knochenmarkes.

Während bei den reinen Entblutungstieren durch den kurzfristig wiederholten Blutverlust eine Leukocytose von maximal 165,4% erzielt wurde, kann bei den *Saponintieren* der blutungsbedingte Abfall der Leukocyten schon nach 3 Std ausgeglichen (K 191) oder unmittelbar von einem Anstieg gefolgt sein, der nach 6 Std 145,1% (K 439) und innerhalb von 24 Std eine Höhe von 344,8% (K 432) oder sogar von 510% (K 472) des initialen Leukocytenwertes erreicht; nur K 433 blieb innerhalb der Versuchsdauer von 24 Std nach einem Anstieg von 8800 auf 16800 mit 90,5% unter der initialen Leukocytenzahl (18600). Der Scheitelwert ist meist in 24 Std erreicht. Auch diese akut einsetzende Leukocytose ist reversibel; doch bildet sie sich langsamer zurück als bei den nur anämisierten Tieren; bei K 454 bestand sie über 72 Std und war nach 96 Std von 284,4% des Ausgangswertes auf 78,9% abgesunken. Der Anstieg der Blutleukocyten ist auch bei den Saponintieren mit einer zunehmenden Linksverschiebung der Leukocytenformel verbunden; doch geht der Prozentsatz der Vorstufen nicht unbedingt parallel dem Ablauf der Leukocytose (K 191), sie erreichen ihren höchsten Wert nach 36 Std (K 171) oder 48 Std (K 454) mit 1,5% Myeloblasten und sind auch nach dem Rückgang der Leukocyten mit 14,5% (K 171) und 18,5% (K 454) im peripheren Blut vorhanden. Im roten Blutbild fällt die hohe Zahl der Erythroblasten auf. Nach 24 Std (K 433, K 432, K 407) sind sie in absolut größerer Anzahl vorhanden als im posthämorrhagischen Erythroblastenschub der nur anämisierten Tiere und gehen im Gegensatz zu dieser Gruppe trotz der gleichfalls und auch rascher noch fortschreitenden Anämie nur langsam zurück (K 171, K 454). Die Bewegung der Blutleukocyten unterscheidet sich quantitativ und auch qualitativ von dem Blutbild der nur anämisierten Kaninchen. Bei den saponinbehandelten Tieren

tritt die Leukocytose schneller auf, erreicht wesentlich höhere Werte und erstreckt sich über einen größeren Zeitraum. Das weiße Blutbild normalisiert sich also langsamer als in Gruppe I.

Die Blutleukocytose ist ebenso wie der posthämorrhagische Anstieg der Leukocyten zunächst durch die Mobilisierung der im Knochenmark noch vorhandenen reifen und dann auch der unreifen Granulocyten bedingt (K 439, K 191). Bis zu 12 Std nach Versuchsbeginn aber bleibt der Zellgehalt des Markes noch gewahrt (K 439 mit 102,8%, K 191 mit 107,8%); doch ändert sich infolge der akuten, zur Linksverschiebung der Leukoformel führenden Eliminierung der myeloischen Zellformen und der verstärkten, mehr geweblich verhafteten Regeneration der Erythrocyten das Verhältnis der Markzellen zugunsten der roten Blutzellreihe auf 100:66 (K 191). Nach 24 Std aber ist der Zellgehalt des Markes auf 86% (K 433) abgesunken; bei der an auffälligen Markblutungen gekoppelten, hochgradigen Blutleukocytose von K 432 findet sich nach 36 Std ein Zellgehalt von nur 68,3% und bei K 472 war er nach 48 Std sogar auf 52,5% reduziert (Abb. 3b). Demnach kann die aus der 1. Gruppe ersichtliche posthämorrhagisch aktivierte Myelopoese den unter Saponin akut einsetzenden und anhaltenden Zellverlust nicht decken; noch nach 72 Std beträgt der Zellgehalt nur 81,6% (K 171), während vergleichsweise das nur anämisierte Tier K 148 nach gleicher Versuchsdauer eine regeneratoische Hyperplasie von 189,5% aufweist. Die Aktivierung des Markes verschiebt das Zellverhältnis zugunsten der roten Blutzellreihe; nach 120 Std beträgt es 100:84 und weist damit den höchsten relativen Wert für die Erythropoese unter allen Tieren auf (Abb. 3c); die Anzahl der Erythroblasten im peripheren Blut sinkt dabei langsam. Aber die verstärkte Erythropoese kann sich infolge der langsamen Ausreifung der Erythroblasten innerhalb eines Zeitraumes von 5 Tagen noch nicht günstig auf die Anämie auswirken; trotz ihres relativ schnellen Eintrittes bleibt die verstärkte Erythropoese also zunächst frustan. Die Tiere K 432 und K 472 zeigten ausgedehnte Blutungen im Knochenmark; gleichzeitig wiesen sie eine auffällig hohe Leukocytose und sehr zahlreiche Erythroblasten im peripheren Blut auf. Infolge der hochgradigen akuten Zellverarmung und der noch fehlenden Regeneration des Markes war eine Verschiebung des Verhältnisses zwischen Myelopoese und Erythropoese mit 100:33 noch nicht eingetreten.

Die in der Abb. 1 dargestellten Befunde von K 432 und K 454 sollen die in Gruppe II hervorgerufenen wesentlichen Veränderungen des Blutbildes und des Knochenmarkes zum Vergleich mit Gruppe I kennzeichnen.

Leukocytose und Linksverschiebung des weißen Blutbildes sind bei beiden Tiergruppen vorhanden; aber bei einer differenten Aus-

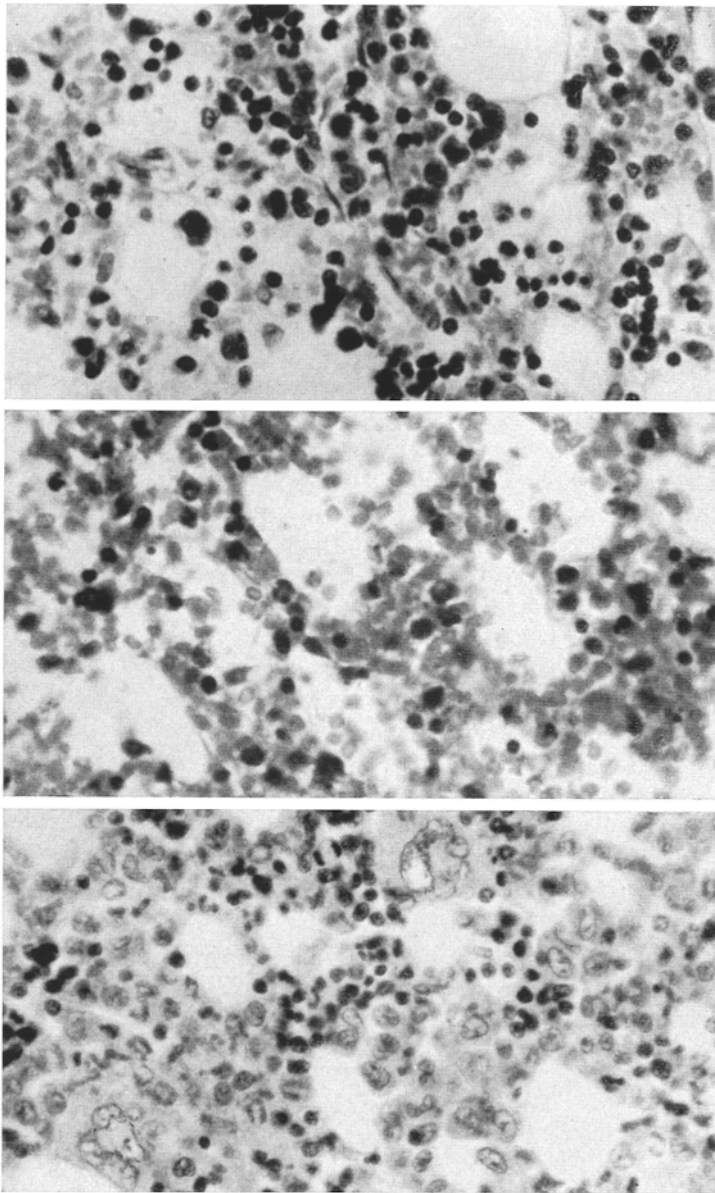


Abb. 3a—c. Knochenmark (Hämat.-Eosin, 560mal). a Aktivierter Hämopoese 24 Std nach 3mal wiederholtem Blutverlust in 120 Std (K 477). b Zellarmes hämorrhagisch-nekrotisches Mark 36 Std nach Saponin (K 432). c Regeneration mit relativ überwiegender Erythropoese 120 Std nach Saponin (K 454)

gangslage des Blutbildes, wie sie für das Kaninchen besteht (vgl. auch SCHERMER), sind quantitative Verschiebung der Leukocyten und ihre qualitative Zusammensetzung für das einzelne Tier doch so variabel, daß ein Vergleich der absoluten Zahlen die versuchsbedingten Unter-

schiede zwischen den beiden Gruppen nicht hinreichend deutlich werden läßt. Deshalb ist in Abb. 2 das Maximum des Anstieges prozentual auf die initiale Leukocytenzahl bezogen worden. Der Vergleich dieser relativen, aber doch signifikanten Werte aus beiden Versuchsgruppen macht die zwar grundsätzlich, aber unterschiedlich stark und schnell eintretende Reaktion der Leukocyten sinnfällig; er zeigt die verhältnismäßig geringgradige, aber auch schon mit myeloischen Vorstufen einhergehende Zunahme der Leukocyten nach einmaligem Blutverlust und die höher und schneller ansteigende Leukozahl nach wiederholter Blutentnahme; er läßt weiterhin erkennen, daß das Saponin bei den vorher punktierten Kaninchen der Gruppe II bis auf eine, vielleicht durch die Kürze der Versuchsdauer bedingte Ausnahme (K 433) nicht nur eine ungleich stärkere, sondern auch wesentlich schneller auftretende Leukocytose hervorruft, bei der auch der absolute Anteil der Vorstufen größer als bei den nur anämisierten Tieren ist.

In der *Leber* tritt nach einmaliger Blutentnahme eine leichte Anhäufung der Leukocyten in den Sinusoiden auf, die sich nach 36 Std auf 154,5% (K 147) beläuft und nach 72 Std 204,5% (K 148) des Leukocytengehaltes der Leber eines gesunden Bezugstieres beträgt (Abb. 4a). Das Verhältnis zum terminalen Blutleukocytenwert verschiebt sich dabei von normaliter 1:153 auf 1:72 (K 147) bzw. auf 1:50 (K 148). Die 3malige Blutentnahme steigert den Leukocytengehalt der Leber in 120 Std über 263,6% (K 477) auf 422,7% (K 192), so daß das Verhältnis zum Wert der Blutleukocyten auf 1:66,8 fällt. An den Abzweigungen der Capillaren in den periportalten Feldern finden sich nach 120 Std (K 477) Zellanhäufungen und bei unauffälligen KUPFFERSchen Sternzellen werden vereinzelte myeloische Vorstufen in den Sinusoiden sichtbar. — Bei den Saponintieren erreicht der Leukocytengehalt schon nach 6 Std 1084% (K 439) (Abb. 4b); das Verhältnis zu den nicht im gleichen Ausmaß ansteigenden Blutleukocyten verringert sich dabei auf 1:21,5. Erstmalig treten hier schon nach 1 Std (K 456) vereinzelte Vorstufen der myeloischen Reihe in den Sinusoiden auf. Von der 36. Std ab (K 432, K 410, K 453, K 473) ballen sich die zahlreicher werdenden Blutzellen zusammen, die das Lumen der Sinusoide in Nähe der Zentralvene ausfüllen und nach 72 Std (K 171) Zeichen beginnender Zellauflösung tragen. Bei K 432 und K 473 bestehen auch in der Leber umschriebene frische Blutungen im Parenchym mit Leberzellnekrosen und reaktivem Verhalten der Sternzellen des betroffenen Acinus. Nach 48 Std liegen in den peripheren Abschnitten der Sinusoide vereinzelte Riesenzellen (K 407), die nach 72 Std (K 171) sich mehr in den zentralen Abschnitten anhäufen (Abb. 5a). Neben Zeichen der Kernpyknose und fädigen Karyolyse werden in ihrem Plasma immer wieder einige gelapptkernige Granulocyten sichtbar (K 171 und K 454).

(Abb. 6 a und b). Die den Riesenzellen benachbart liegenden Uferzellen sind oft geschwollen und vereinzelt auch abgelöst. Die Sternzellen geben aber keinen Anhalt für eine Proliferation oder für eine Transformierung weder zu Blut- noch zu Riesenzellen; auch besteht keine Vermehrung oder ein verfolgbare Zusammenhang ihrer Gitterfasern mit den Riesenzellen oder mit den unterschiedlich differenzierten myeloischen Blutzellen in den Sinusoiden (Abb. 5 b).

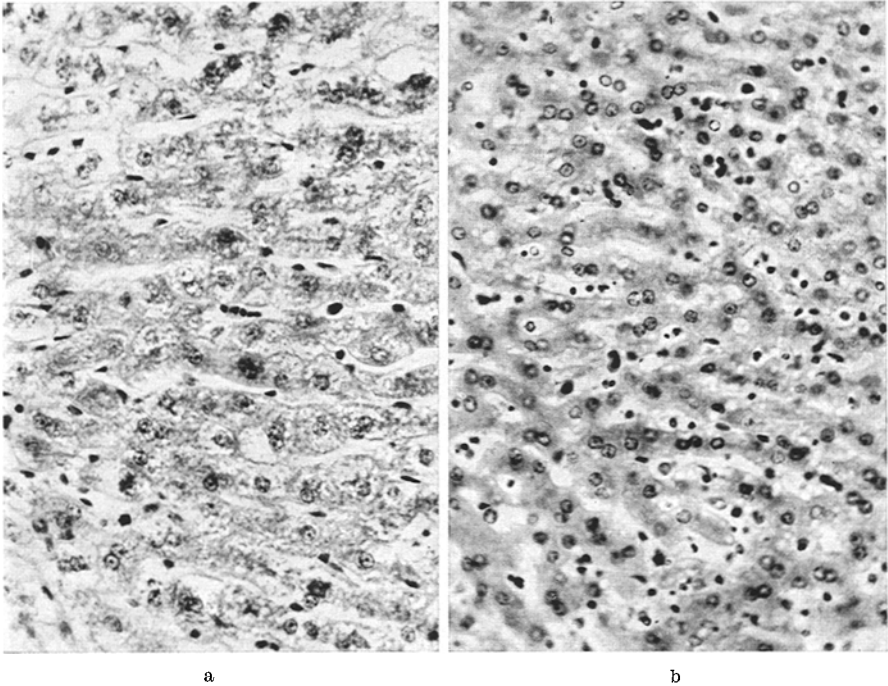


Abb. 4 a u. b. Leber (Hämat.-Eosin, 310mal). Unterschiedlicher Zellgehalt der Sinusoide. a 24 Std nach 3mal wiederholtem Blutverlust in 120 Std (K 477) und b 6 Std nach Saponin (K 439)

In den Sinusoiden der *Milz* finden sich bei den Tieren der Gruppe I erst nach 3maliger Punktion zahlreiche myeloische Zellen (K 477); dabei lassen die anliegenden Uferzellen außer einer geringen Hämosiderinspeicherung keine Veränderung erkennen. — In Gruppe II werden die Sinusoide schon von der 6. Std (K 439) ab zellreicher; nach 48 Std (K 407) treten auch vermehrt unreife Formen der weißen und der roten Blutzellreihe in den Sinusoiden auf, die im weiteren Versuchsablauf Kernverformungen und fortschreitende Auflösung zeigen (K 454). Megakaryocytaire Riesenzellen erscheinen vereinzelt nach 36 Std (K 432) und 48 Std (K 407) (Abb. 5 c). Später finden sich in

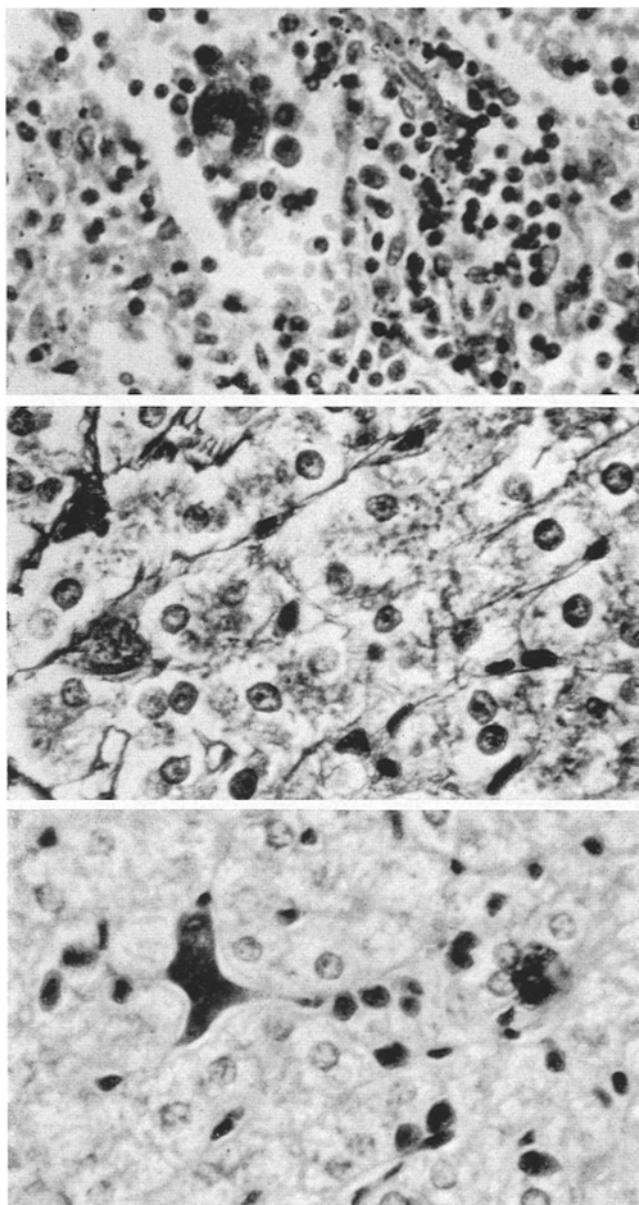


Abb. 5a—c. Reife und unreife myeloische Blutzellen sowie einzelne Riesenzellen in den Sinusoiden der Leber 120 Std nach Saponin (K 454). a Hämät.-Eosin, 560mal. b Silberimprägnation, 560mal, und der Milz 48 Std nach Saponin (K 407). c Hämät.-Eosin, 560mal mit inaktiven Uferzellen

ihrem Plasma einige gelapptkernige Granulocyten bei deutlich regressiven Kernveränderungen (Abb. 6c) mit gelegentlich fädiger Kernauflösung nach 120 Std (K 454). Auch in dieser Gruppe bleiben die Ufer-



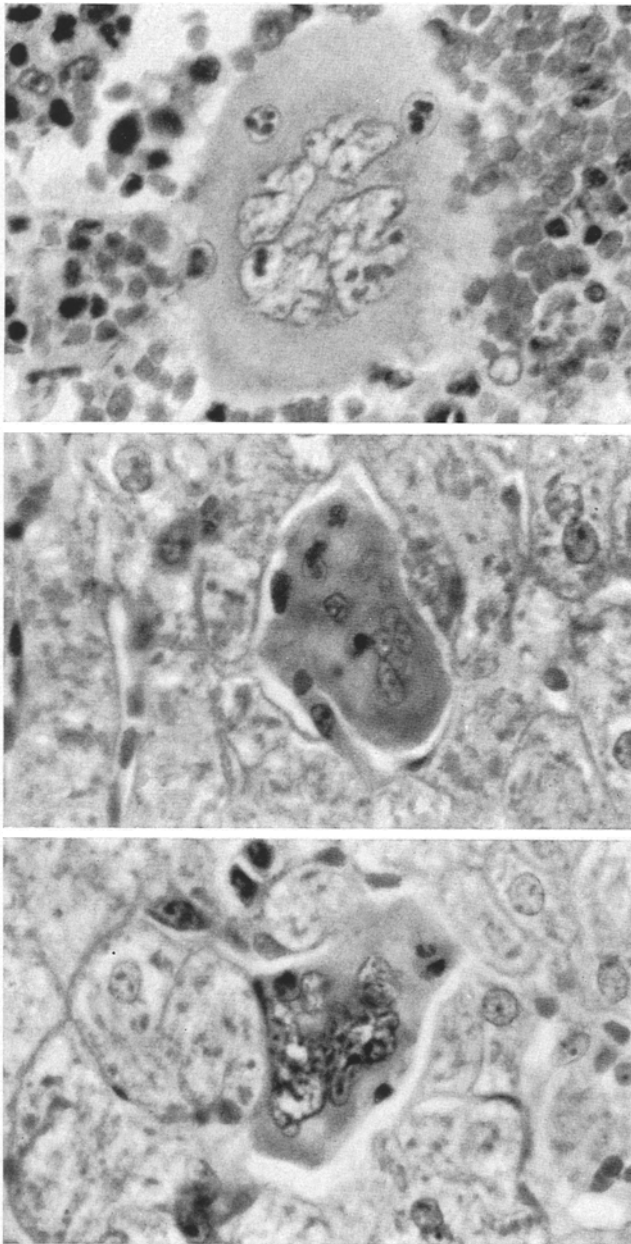


Abb. 6a—c. Abbau der megakaryocytairen Formen in den Sinusoiden von Leber (a, b) und Milz (c) durch Sternzellen und Granulocyten 72 Std nach Saponin (K 171; Hämat.-Eosin, 750mal)

zellen während der Versuchsdauer im allgemeinen unauffällig und ohne Anhalt für eine Proliferation oder blutzellige Transformierung.

In den *Lymphknoten* der nun entbluteten Tiere trifft man neben zellreichen Follikeln bei relativ zellarmen Marksträngen nach 72 Std (K 148) und nach 120 Std (K 477) gelegentlich in den Sinusoiden reife und unreife weiße Blutzellen ohne Mitosen an. — Bei den Saponinieren treten nach 6 Std (K 439) in den Capillaren und vereinzelt in den Marksträngen einige Granulocyten mit vereinzelter Vorstufen auf; ihre Anzahl verhält sich entsprechend zur Blutleukocytose, wie der Befund bei K 432 (36 Std) beispielhaft zeigt. K 171 weist nach 72 Std auch im Randsinus einige myeloische Zellen mit Vorstufen auf; sonst besteht keine ortsungewöhnliche Ansammlung von Blutzellen. Eine Proliferation oder formale Umgestaltung der flachen Uferzellen zu Blutzellen ist nicht zu belegen. Bei K 191 und K 407 waren einige Follikel mit kleinen Blutungen durchsetzt.

In der *Lunge* fällt bei den Tieren der Gruppe I schon nach 36 Std (K 147) ein gewisser Reichtum des Blutes in den kleinen Arterien und Capillaren an kernhaltigen Elementen der roten und weißen Blutzellreihe auf; nach 72 Std (K 148) sind einige dieser Zellen durch Plasmaverlust nacktkernig geworden. Unreife myeloische Formen wurden nur bei 3maliger Anämisierung nach 120 Std (K 477) festgestellt; sie sind dann zusammengeballt, nacktkernig und pyknotisch (Abb. 7a). — Dagegen treten bei den saponinbehandelten Tieren schon nach 1 Std (K 456) vermehrt gelapptkernige Granulocyten mit vereinzelter jugendlichen Elementen in den Lungencapillaren auf, die nach 36 Std (K 432) bei starker Blutleukocytose Alveolarcapillaren und kleine Arterien ausfüllen (Abb. 7b). Die Auflösung der verklumpten Zellen und auch der isolierten Kerne ist nach 120 Std (K 454) deutlich (Abb. 7c). Einige verformte Riesenzellkerne sind erstmalig nach 36 Std (K 432) nachzuweisen; sie werden mit der Versuchsdauer zahlreicher aber weisen nach 120 Std gleichfalls Zeichen der vorgeschrittenen Karyolyse auf. Das Gefäßendothel bleibt in jedem Falle ebenso unauffällig wie die bindegewebigen Septen und das bronchopulmonale lymphatische Gewebe.

Nur in der 2. Versuchsreihe finden sich schon nach 6 Std (K 439) in der *Nebenniere* vermehrt reife und unreife myeloische Zellen in den Capillaren der Zona reticularis und nach 12 Std (K 191) auch vereinzelt in denen der Zona glomerulosa (Abb. 8a); nach 36 Std (K 432) verdichten sie sich in den Capillaren der Zona reticularis. Mit zunehmender Versuchsdauer und unabhängig von der Bewegung der Blutleukocyten steigt der Gehalt der Rindencapillaren an myeloischen Elementen an, bei denen nach 120 Std regressive Veränderungen bestehen (Abb. 8b). Nach 72 Std (K 171, K 408) und 120 Std (K 454) finden sich plasmaarme Riesenzellen und isolierte pyknotische Riesenzellkerne, umgeben von gelapptkernigen Granulocyten, besonders in den Capillaren an der Rinden-Mark-Grenze. Die anliegenden Capillarendothelien bleiben

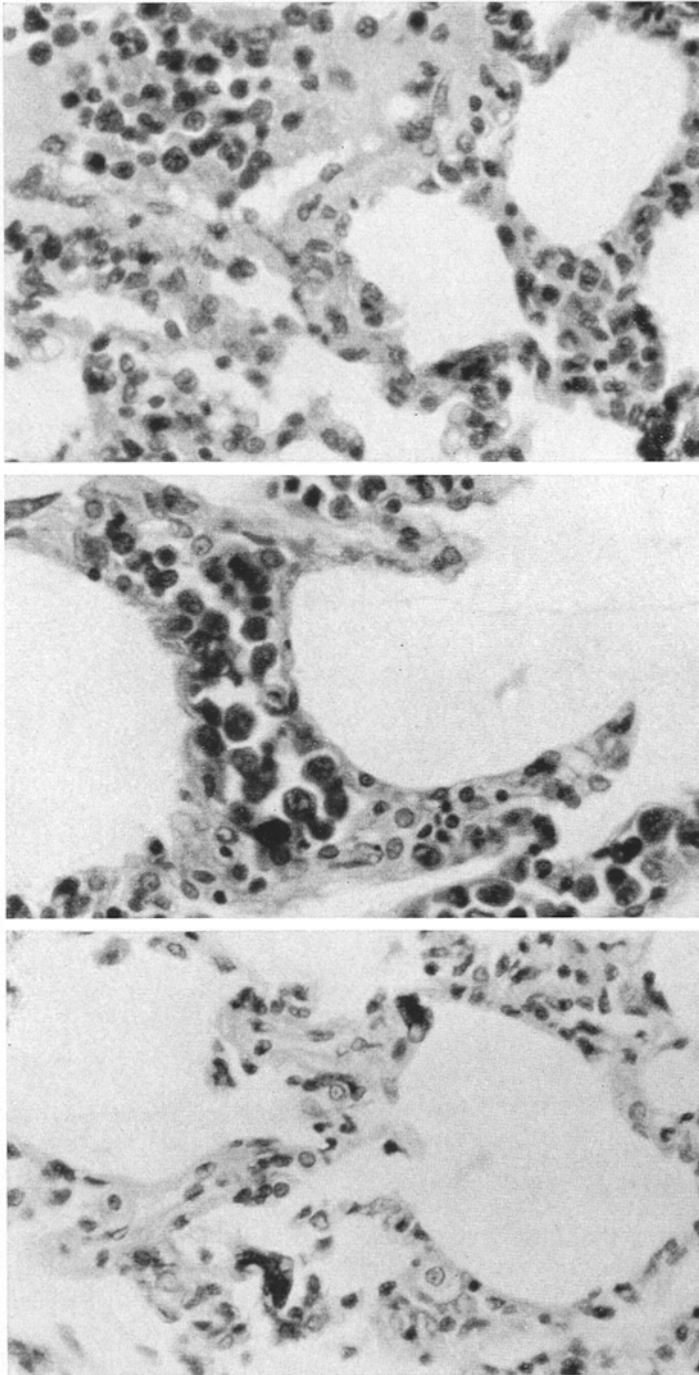


Abb. 7 a—c. Lunge. a Zell- und Kernreste in den Capillaren bei kurzfristiger Leukocytose 24 Std nach 3mal wiederholtem Blutverlust in 120 Std (K 477, Pappenheim, 560mal). b Zellenbolle bei hochgradiger Leukocytose durch akute Entleerung des Knochenmarkes 36 Std nach Saponin (K 432; Hämat.-Eosin, 560mal). c Verkumpung und beginnende Nekrose der embolisierten Zellen und nackten Kerne in den Capillaren 120 Std nach Saponin (K 454; Hämat.-Eosin, 560mal).

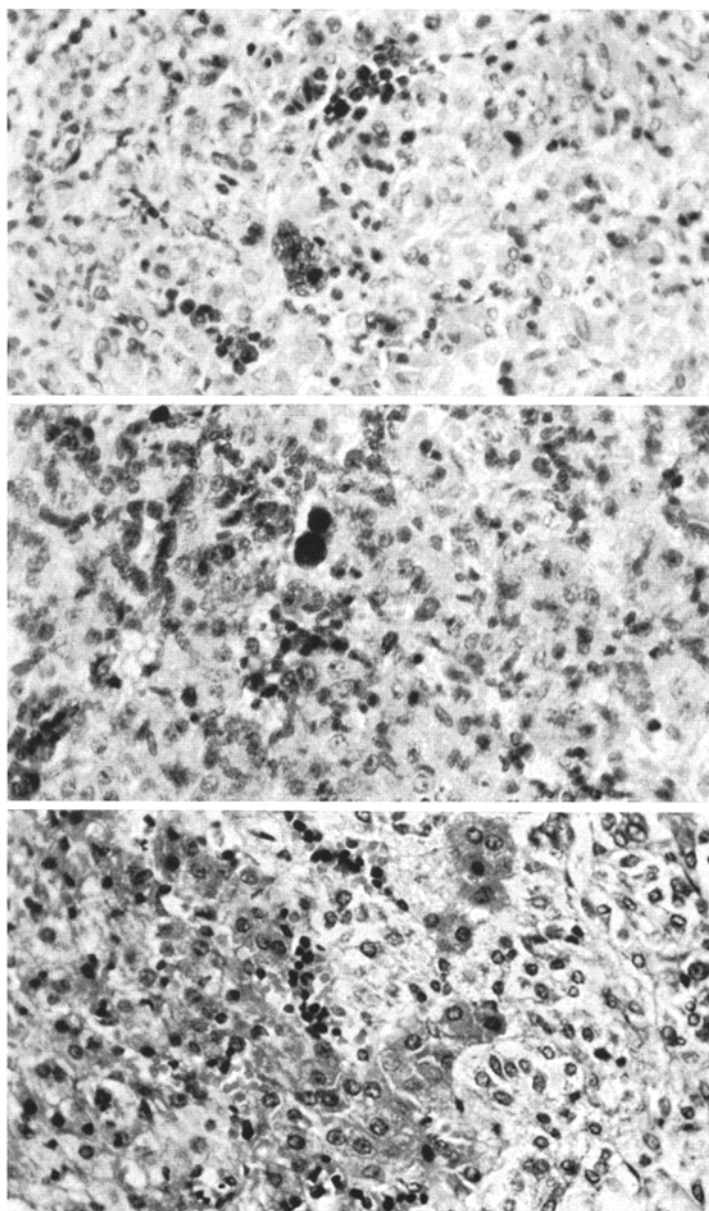


Abb. 8a—c. a Anhäufung myeloischer Elemente in den Capillaren der Zona reticularis der Nebennierenrinde 6 Std nach Saponin (K 439; Hämät.-Eosin, 310mal). b Einsetzende Auflösung der Zellen in den Capillaren der Nebennierenrinde und c der Hypophyse 120 Std nach Saponin (K 454; Hämät.-Eosin, 310mal)

unauffällig, die perivasalen Zonen zellfrei. Bei K 433 (24 Std) und dem schon wegen der Blutungen im Knochenmark und in der Leber erwähnten Tier K 407 finden sich auch in der Nebennierenrinde umschriebene frische Blutungen.

In der *Hypophyse* zeigen nur die Saponintiere bei unauffälligem Parenchym und flachen Endothelien in den Capillaren vermehrt Granulocyten. Nach 24 Std (K 433) finden sich einige Vorstufen der weißen Blutzellreihe und vereinzelte Erythroblasten. Nach 72 Std (K 171) sind relativ mehr Zellen vorhanden als bei einer akuten hohen Leukocytose (vgl. K 432). Nach 120 Std (K 454) treten an den zahlreicher gewordenen myeloischen Zellen sowie an den nach 72 Std (K 408) erscheinenden Riesenzellen nekrobiotische Veränderungen auf und plasmafreie Riesenzellkerne (Abb. 8c). Capillarendothelien und pericapilläre Zonen bleiben unverändert.

Der *Thymus* zeigt in beiden Gruppen im interstitiellen Fettgewebe bei flachen Capillarendothelien lockere perivasale Herde vorwiegend weißer Blutzellen mit einigen Vorstufen. Diese zellarmen myeloischen Herde bleiben in ihrer quantitativen und qualitativen Zusammensetzung unberührt von der Versuchsbedingung. Nur bei den Tieren der Gruppe II finden sich von der 6. Std ab (K 439) auch in den Capillaren kernhaltige Blutelemente mit einzelnen weißen Vorstufen nach 12 Std (K 191); bei extrem hoher Blutleukocytose enthalten die Capillaren von K 432 sehr viel reife und unreife Granulocyten sowie einige Erythroblasten.

Im untersuchten *Fettgewebe* finden sich nur bei den Saponintieren gleichlaufende Veränderungen im Sinne der Blutleukocytose. Die perivasalen Gebiete sind unauffällig.

In der *Niere* der Entblutungstiere wurden nur einmal bei K 192 (120 Std) vermehrte kernhaltige Blutzellen in den Glomeruluscapillaren angetroffen. — Bei den Tieren der Gruppe II liegt schon nach 6 Std (K 439) eine Vermehrung der Blutzellen in den intertubulären Capillaren vor. Nach 12 Std (K 191) treten auch in den Capillaren der Glomerula und des Interstitiums reife und unreife myeloische Zellen und isolierte Kerne auf, die bis zu 120 Std sichtbar bleiben (K 454). Die Tubuli enthalten nur bei dieser Gruppe zuweilen lockere Eiweißzylinder. Das Hilusfettgewebe erfährt keine Veränderung.

Die übrigen, histologisch untersuchten Organe, Herz, Speicheldrüse, Appendix, Pankreas, Tonsille, Schilddrüse, Ovar und Hoden, geben außer den Zeichen der jeweils wechselnden und in ihrer Beschaffenheit schon besprochenen Blutleukocytose keinen Anhalt für ortsungewöhnliche, speziell extravasale Bildungsherde myeloischer Blutzellen; Capillarendothelien sowie perivasales Binde- und Fettgewebe bleiben in dieser Beziehung völlig unverändert.

## V. Diskussion

### A

Die im Hinblick auf die unterschiedliche Deutung der „myeloischen Metaplasie“ durchgeführten Untersuchungen am Kaninchen setzen

die verfolgbare Entwicklung extramedullärer Herde voraus. Für die Beurteilung ihrer formalen Genese bleibt die zwar konstant angetroffene, aber doch spärliche und zudem von den Versuchsbedingungen unbeeinflusste Granulocytopoese im interstitiellen Fettgewebe des Thymus irrelevant. Daher war zunächst zu prüfen, ob die gewählten Versuchsbedingungen zu einem ortsfremden, nicht lokal verursachten Auftreten myeloischer Zellen führen.

Die in Tabelle 1 und Abb. 1 und 2 beispielhaft dargelegten Blut- und Knochenmarkbefunde zeigen, daß die ortsständige Hämpoese schon durch wiederholte Anämisierung (Gruppe I) eine deutliche, vorzüglich quantitative Störung erfährt, die durch zusätzliche Saponingabe (Gruppe II) gleichzeitig auch stark qualitativ potenziert wird. Die Bewegungen der Blutbilder leukämoider Prägung zeigen ein gegenläufiges Verhalten zu den Vorgängen im Knochenmark; der Vergleich zwischen maximalen und terminalen Zahlen der Blutleukocyten und dem zugehörigen Markbild zu verschiedenen Zeitpunkten der Untersuchung deutet auf eine wechselseitige Beziehung hin. Diese Blut- und Knochenmarkveränderungen sind innerhalb der Versuchsdauer von 120 Std weitgehend reversibel. Sie führen in den *Organen* der Tiere beider Versuchsgruppen zu einer in Gruppe II wesentlich schnelleren und stärkeren Ansammlung von zunächst reifen und später auch unreifen myeloischen Zellen sowie von megakaryocytären Formen. Mit Ausnahme der Lymphknoten halten sie sich an die Blutstrombahn und weisen in den späteren Versuchsphasen regressive Veränderungen auf. So wird das leukämoide Blutbild von einem in seiner extramedullären Verteilung leukoseartigen anatomischen Substrat begleitet. In beiden Versuchsgruppen, besonders auffällig aber bei den Tieren der Gruppe II, überdauert der Gehalt der Lebersinusoiden an Leukocyten sehr deutlich das reversible leukämoide Blutbild.

Die Ergebnisse aus den Befunden bei den Tieren der Gruppe I bestätigen die unter gleichen Versuchsbedingungen schon früher von DOMINICI, SKORNJAKOFF beim Kaninchen und von JAFFÉ bei der Maus gemachten Beobachtungen; mit dieser Feststellung kann die immer wieder, von ITAMI und BLUMENTHAL u. MORAWITZ mit negativem Resultat, geführte Diskussion um die Möglichkeit einer Beeinflussung der Hämpoese des Kaninchens durch Anämisierung als abgeschlossen gelten. Offensichtlich drückt sich in den dargelegten Veränderungen des Blutbildes der nur anämierten Tiere die Labilität der medullären Blutbildung aus; denn auch die einmalige Punktion von  $\frac{1}{7}$  der Gesamtblutmenge bleibt im Gegensatz zu den Angaben von OMURA und OSOGOE nicht ohne nachhaltige Folge auf Blutbild und Knochenmark. Die besonders bei Gruppe II auffällig leukoseähnlichen Blut- und Organbefunde entsprechen im wesentlichen älteren (ISAAC u. MÖCKEL,

DRINKER, DRINKER u. LUND), neueren [LANG(a), CUSTER, LIVADAS] und jüngsten (OMURA u. OSOGOE) Mitteilungen.

## B

Während nun die kausale Genese der Blut-, Knochenmark- und Organveränderungen bei Gruppe I durch die Anämisierung und in Gruppe II mit der zusätzlichen Gabe von Saponin gegeben ist, werden diese Befunde bezüglich ihrer *formalen Genese* entweder im Sinne der homoplastischen oder als Folge einer heteroplastischen Myelopoese gedeutet (BLOOM). Die Vorgänge im Knochenmark und die Verschiebungen des Blutbildes lassen zunächst an eine hämatogene Absiedelung von Knochenmarkzellen denken im Sinne einer versuchsbedingten gesteigerten Eliminierung nach physiologischem Vorbild; dieser Modus der Kolonisierung wird besonders für den akuten Saponinversuch von OMURA u. OSOGOE vertreten. Die bevorzugte, leukotischen Prozessen entsprechende Verteilung und die von den Bewegungen der Blutleukocyten weitgehend unabhängige Verweildauer der Zellen in Milz und Leber als bestimmten extramedullären Provinzen des retothelialen Systems glauben dagegen LANG und CUSTER nach ihren Experimenten auf eine direkte metaplastische Entstehung von Blutzellen nach Art der frühfetalen, mesodermalen Hämpoese beziehen zu können. Außer diesen Deutungen wäre für die Pathogenese auch die Möglichkeit der lokalen Proliferation und Ausreifung der blut-fremden Vorstufen zu diskutieren, sowie an eine Einwanderung aus der perivasalen Keimschicht zu denken. Somit sind 4 Modi einer heterotopen Anhäufung myeloischer Zellen gegeben, die unter Hinweis auf ähnliche Verhältnisse beim Menschen zu erörtern sind:

1. lokale Vermehrung,
2. Einwanderung aus den Indifferenzzonen der Gefäßwand,
3. lokale Zellbildung aus dem jeweiligen reticulumzelligen Milieu der Sinusoide (direkte Metaplasie) und
4. hämatogene Absiedelung aus dem physiologischen Bildungsort (Kolonisierung).

Hierbei ist grundsätzlich festzuhalten, daß dieser Betrachtung Veränderungen in Blut, Knochenmark und Organen zugrunde liegen, die als experimentell bedingte Reaktionen zwar leukämoid geprägt sind aber infolge ihrer Reversibilität nicht einer eigengesetzlichen Blutzellvermehrung entsprechen.

ad 1. Nach KNOLL, dem wir grundsätzliche Einblicke in Beginn und Ablauf der Hämpoese verdanken, entstehen die Leukocyten aus sich heteroplastisch teilenden Vorstufen (MAXIMOW), die ursprünglich aus mesodermal-reticulumzelligen Elementen entstehen, in der definitiven Hämpoese sich aber aus schon einseitig determinierten Stamm-

zellen regenerieren. An den ortsfremd angehäuften Vorstufen der weißen aber auch — und das sei hier ergänzend vermerkt — der roten Blutzellreihe lassen sich nicht nur keine Mitosen und Anhaltspunkte für eine Differenzierung erkennen, sondern vielmehr schon zum Zeitpunkt der maximalen Blutleukocytose Zeichen der beginnenden Kernpyknose und Karyolyse feststellen, die — besonders deutlich in den Capillaren der Lunge und der Nebennierenrinde — nach 120 Std in eine Verklumpung und Cytolyse ohne Reaktion des Endothels oder der Gefäßwand einmünden. Eine Vermehrung der Vorstufen ist auch in dem reticulumzelligen Milieu der Sinusoide in Milz und Leber nicht zu erkennen.

ad 2. Die ortsungewöhnliche Anhäufung der reifen und unreifen Zellformen durch eine Einwanderung aus der Umgebung erklären zu können, setzt ihre extravasale Bildung voraus; sie findet sich beim Kaninchen unter normalen Bedingungen nur im Thymusfettgewebe; durch ihre topographische Beziehung zu perivasalen Zonen des Bindegewebes ist sie vermutlich Ausdruck einer hämopoetischen Funktion der adventitiellen Indifferenzzone, aus der HERZOG (a) und HUECK myeloische Elemente entstehen sahen.

Die beim Menschen nicht so seltenen sog. spontanen, d. h. nicht hämopathisch verursachten heterotopen Blutzellbildungsherde markartigen Gepräges sind durch ihre reticulumzellige Matrix auf eine derartige, zwar nicht obligate aber doch fakultativ sich manifestierende Funktion der adventitiellen Keimschicht zu beziehen; sie ist unter ortho- und pathologischen Verhältnissen für die Monocyten und Plasmazellen gesichert. Die seltenen Leukosen mit dem anatomisch-histologischen Substrat einer systematisierten Wucherung des retothelialen Systems im Sinne einer retothelialen Hämoblastose gehen mit einer sehr intensiven Aktivierung nicht nur der adventitiellen sondern auch der subendothelialen Keimschicht einher [FRESSEN (b)].

Diese formal undifferenzierten und dabei funktionell pluripotenten Indifferenzonen erweisen sich bei der histologischen Untersuchung der Tiere beider Gruppen und gleich welcher Lokalisation als völlig inaktiv. Das Endothel der Arteriolen und Capillaren in Lunge, Nebennierenrinde und Hypophyse, also an Stellen verdichteter Blutzellanhäufungen mit stärkeren regressiven Veränderungen, bleibt ebenso unauffällig wie die Gefäßwand selbst. Die fakultative Myelopoese in den Indifferenzonen der Gefäßwand ist unter den Bedingungen der Anämisierung und des akuten Saponinversuches nicht aktiviert worden, wie die vom Experiment unbeeinflusste, spärlich bleibende Myelopoese im Zwischengewebe des Thymus ausweist. Die Ansammlung reifer und unreifer Blutzellen mit bevorzugter Anhäufung in bestimmten Abschnitten der Blutstrombahn kann daher nicht mit einer gerichteten Einwanderung dieser Zellen aus den gefäßgebundenen Indifferenzonen erklärt werden.



ad 3. In der extramedullären, an die Blutbahn gebundenen Verteilung des leukämoiden Substrates fällt eine regelhaft bevorzugte Anhäufung und eine größere Verweildauer der Zellen in den Sinusoiden der Milz und zahlenmäßig belegt in denen der Leber auf; in den engen Capillaren der Nebennierenrinde und Hypophyse erfolgt ihre Zunahme ebenso wie in den glomerulären und intertubulären Capillaren der Niere langsam unter Eintritt deutlicher regressiver Veränderungen. Lokalisation und Anhäufung lassen sich weder in diesen Organen noch in den Sinusoiden aus dem Verhalten der Blutzellen selbst oder mit einer Einwanderung aus den unveränderten perivasalen Gebieten begründen. Mit ihrer zahlenmäßig nicht an die Bewegung der Blutleukocytose gebundenen, zuweilen sehr starken Anhäufung und Verweildauer in den Sinusoiden von Milz und Leber lassen sich eine topographische Beziehung zu diesen extramedullären Abschnitten des retothelialen Systems erkennen.

LANG vertritt auf Grund seiner fortgesetzten Saponinversuche eine lokale direkte Metaplasie aus ortsständigen Zellen des retothelialen System, denen er die Eigenschaft eines Hämocytoblasten zuspricht. SCHERMER unterstellt den Uferzellen der Sinusoide eine myeloplastische Funktion. CUSTER und FABRIS, die mit gleicher Versuchsmethodik beim Kaninchen arbeiteten, bewerten die, in unseren Versuchen zuerst in der Milz erscheinenden, Riesenzellen als abgelöste, zu Megakaryocyten transformierte Uferzellen der Sinusoide. Für die Annahme einer lokalen, retothelialen Metaplasie myeloischer Blutzellen in den Sinusoiden lassen sich die bevorzugte Anhäufung und längere Verweildauer der reifen und vor allem der unreifen Formen anführen; im gleichen Sinne ließe sich die Tatsache werten, daß nach Milzexstirpation weniger Zellen in der Leber auftreten sollen (HEDINGER). Auch die Knochenmarkssperre für unreife Elemente könnte diesen Deutungsversuch stützen, wenn sie ausnahmslos bestünde. Es liegen aber histologisch gesicherte Beobachtungen vorzüglich infektbedingter, durch markeigene Vorstufen bestimmte leukämoide Reaktionen vor, die auf das Knochenmark beschränkt waren und keine extramedullären myeloischen Herde oder in diesem Sinne gedeutete Ansammlungen weder innerhalb noch außerhalb der Blutbahn aufwiesen (HALHUBER, CHAKRAVATI u. a.). Die Persistenz der Hämpoese bei kongenitaler Osteosklerose und ihr vikariierendes Auftreten bei der Myelosklerose vorzüglich in der dann stark vergrößerten Milz und Leber, lassen gleichfalls an die Möglichkeit einer heterotopen retothelialen Myelopoese denken; aber es bleibt noch histomorphologisch zu prüfen, ob die im Rahmen markverödender Erkrankungen in Milz und Leber wieder einsetzende Blutzellbildung tatsächlich auf einer lokalen Metaplasie beruht. Im Rahmen der definitiven Hämpoese als Regeneration aus spätfetal determinierten, sich selbst erneuernden Stammzellen bleibt nur die Monocytopoese und die Plasmazellbildung innerhalb und außerhalb des Markes genetisch an das retotheliale System gebunden, wie reaktiv hyperplastische, geweblich oder hämatologisch sich äußernde Reaktionen erkennen lassen (SCHILLING); selbst die Reticulose, als systematisierte Neoplasie des retothelialen Systems, kann zuweilen hämocytisch differenziert sein [FRESN (b)]. Damit ist für den Menschen eine metaplastische ortsständige retotheliale Entstehung verschiedenartiger Blutzellen gesichert. Auch für die gewöhnlichen Leukosen des Menschen ist der metaplastische Modus oftmals präjudiziert worden; aber ihre systematisiert erscheinende Ausbreitung ist histologisch doch nur als Ausdruck

einer gleichbleibenden, zunächst noch an die Blutbahn sich haltenden Absiedelung zu werten; ihr pathogenetisches Prinzip stellt gegenüber den retothelialen Hämoblastosen somit keine Reminiszenz der frühfetalen mesodermalen Blutzellentstehung dar.

Aus diesen Feststellungen und Annahmen ergibt sich die Notwendigkeit, die Histotopik der in den Sinusoiden angehäuften reifen und unreifen myeloischen Elemente zu den ortsständigen Zellen des retothelialen Systems, zu den Uferzellen, auf ihre formale Genese zu untersuchen. Für die Diskussion einer retothelial bestimmten metaplastischen Myelopoese darf auf das histologische Substrat des retothelialen Systems verwiesen werden [FRESSEN (a)].

Auf Grund funktioneller und histomorphologischer Untersuchungen ist das gewöhnliche Capillarendothel und damit das Capillarendothel der Nebennierenrinde und Hypophyse aus dem retothelialen System auszuschließen. So könnte eine ortsständige Blutzellentstehung in diesen Organen nur aus den pericapillären Histiocyten erfolgen. Aber auf Grund fehlender perivasaler Zellanhäufungen läßt sich die in den späteren Versuchsphasen zunehmende Anhäufung der dann auch oft deutlich regressiv veränderten unreifen myeloischen Zellformen in den Capillaren nicht aus einer lokalen heterotopen extravasalen retothelial bedingten Blutzellbildung erklären.

Da formale Äußerungen des retothelialen Systems durch die bestimmte histologische Textur eines syncytial-fibrillären Zellverbandes gekennzeichnet sind, wurde mit der histologischen Methode der Darstellung reticulärer Gewebsstrukturen durch die Silberimprägnation die formal-genetische Beziehung der zahlenmäßig ungewöhnlichen und zudem auch blutfremden myeloischen Vorstufen zu den Uferzellen der Sinusoide in Milz und Leber untersucht. Es war schon betont worden, daß die Uferzellen der genannten Sinusoide weder Zeichen einer Proliferation noch Anhalt für eine Transformierung zu Blutzellen aufwiesen. Auch mit der Silberimprägnation ließen sich keine formalgenetisch zu wertenden Beziehungen der Zellen zu den ortsständigen retothelialen Elementen in Milz, Leber und auch in den Sinusoiden der Lymphknoten verfolgen. Eine ortsständige Vermehrung dieser Zellen war gleichfalls nicht zu beobachten, vielmehr zeigten sie nach 72 Std verstärkte Zeichen der Pyknose und Cytolyse. Eine ortsständige retotheliale formale Genese der Blutzelle im Sinne der heteroplastischen oder direkten myeloischen Metaplasie tritt somit im akuten Saponinversuch nicht ein. Die Problematik, die in dem verständlichen Bemühen um eine Erklärung der histologischen Verhältnisse durch subsummierte Transformierung ortsständiger Zellen zu Übergangszellen liegt, wird auch bei JAFFÉ deutlich, der experimentell eine autochthone Zellbildung auch nicht nachweisen konnte, sie aber nicht ausgeschlossen wissen will.

ad 4. Für die heterotope Ansammlung der myeloischen Zellen, vor allem der normaliter nur markständigen Vorstufen, mit deutlicher Massierung z. B. in den Capillaren der Lunge, der Nebennierenrinde und Hypophyse, kann also die Möglichkeit der lokalen Proliferation dieser Zellen selbst ebenso ausgeschlossen werden wie der Versuch, ihre formale Genese durch eine Einwanderung aus den perivasalen Indifferenzonen zu deuten. Da auch der 3. Modus, die lokale direkte Metaplasie, histomorphologisch in beiden Versuchsreihen nicht zu verfolgen ist, wäre jetzt als letzte Möglichkeit die hämatogene Absiedelung der Zellen aus ihrem physiologischen Bildungsort, dem Knochenmark, zu erörtern.

a) Für diesen Entstehungsmodus der bei beiden Gruppen grundsätzlich, aber quantitativ und qualitativ wesentlich unterschiedlich erfolgenden ortsungewöhnlichen Anhäufung reifer und unreifer myeloischer Elemente spricht zunächst die Tatsache, daß die extramedulläre Verbreitung unter einer mehr oder weniger starken Leukocytose an die Blutstrombahn gebunden ist; eine diese Regel bestätigende Ausnahme für die Lymphknoten wird unten zu besprechen sein. Der Vergleich des Hämogramms mit dem zugehörigen Myelogramm bezüglich Stärke und Zusammensetzung des Zellgehaltes weist auf eine enge Beziehung zwischen Blutbild und Markfunktion hin (vgl. Tabelle 1); sie ist in den extremen Fällen (K 432, K 473, K 472) mit akutester, hochgradiger, linksverschobener Leukocytose bei stark reduziertem Zellgehalt des Knochenmarkes eindeutig; da noch keine Verschiebung des Verhältnisses zwischen weißen und roten Markzellen eingetreten ist, kann diese rasche und hochgradige Zellverarmung des Knochenmarkes nur durch einen akuten Zellverlust hervorgerufen worden sein. Diese Relation läßt sich auch zwanglos für jedes andere Tier aus beiden Gruppen ablesen und ist in ihrem quantitativen Ausmaß mit der Störung reversibel. Auf Grund dieses gegensätzlichen Verhaltens von Zahl und Art der Zellen im Blut und im Knochenmark stellt sie ein reziprokes Verhältnis dar, das unter gesunden Verhältnissen mit der Ausschwemmungssperre für unreife Formen die Zusammensetzung des Markes und des Blutbildes bestimmt.

b) Abgesehen von den in dieser Beziehung negativen Ergebnissen der histologischen Untersuchungen kann eine akute, durch myeloische Vorstufen charakterisierte starke Leukocytose innerhalb der kurzen Versuchsdauer von beispielhaft 24—36 Std nicht durch eine heterotope metaplastische Myelopoese hervorgerufen werden. Nach neuesten Bestimmungen an mit  $P_{32}$  etikettierten Granulocyten beträgt ihre Entwicklungszeit ungefähr 62 Std bei einer Gesamtlebensdauer von 5 Tagen (OSGOOD u. KRIPPAHN). Ferner soll die Exstirpation der Milz ohne Einfluß auf das Blutbild und den Zellgehalt der Leber-

sinusoide bleiben (LIVADAS, JAFFÉ). Somit weist die rasch eintretende Blutleukocytose mit dem prozentualen Anstieg der fast gleichzeitig auftretenden Vorstufen (vgl. Tabelle 1) auch aus diesen Erwägungen heraus auf den Modus einer hämatogenen Ausschwemmung markständiger reifer und dann auch unreifer myeloischer Zellen, die unter Saponin intensiver sein muß als unter der Voraussetzung der Anämisierung.

c) Das schnelle Auftreten der Granulocyten und ihrer größeren Vorstufen in den Capillaren der Lunge könnte a priori und grundsätzlich für die hämatogene Absiedelung angezogen werden, wenn bei den experimentellen Untersuchungen überhaupt eine metaplastische Myelopoese auszuschließen wäre, die aber doch unter den berichteten Umständen hervorgerufen und auch für den Menschen in gewissem Ausmaß belegt werden konnte. Für den Zellgehalt der Lungencapillaren ist zu berücksichtigen, daß das Blut der Vena cava caudalis auch mit den in den Lebersinusoiden befindlichen Zellen und über die Vena portae und lienalis vielleicht auch mit denen aus der Milz angereichert wird, auch dann, wenn diese Zellen nicht in den Sinusoiden entstehen.

Die Injektionsversuche an Kaninchen mit Knochenmarkgewebe (OGATA) hatten nun gezeigt, daß die intravenös eingebrachten myeloischen Zellen und Megakaryocyten in der Lunge abgefangen und innerhalb von 3—7 Tagen abgestorben waren; OSOGOE u. OMURA kamen mit gleicher Methodik beim gleichen Tier zu ähnlichen Ergebnissen. Eine Einflußnahme der Lunge auf das Blutbild besteht offenbar auch für den Menschen; transfundierte Leukosezellen erscheinen nur dann im peripheren Blut, wenn der Empfänger heparinisiert war, so daß die Lunge sogar als ein Reservoir für Leukocyten angesehen wird (BIERMAN, BYRON u. LANMAN).

Der Zellgehalt der Lungencapillaren erweist sich gegenüber dem anderer Capillargebiete als betont abhängig von der Blutleukocytose und der Versuchsdauer; er ist bei den Saponintieren auch bei geringerer Blutleukocytose höher (vgl. Abb. 7). Zeichen für eine Proliferation liegen nicht vor; vielmehr treten auch in der Lunge die stetig deutlicher werdenden regressiven Veränderungen an den Leukocyten zu einem Zeitpunkt auf, der an ihre gewöhnliche Verweildauer im Blute von etwa 60 Std geknüpft erscheint. Diese Beobachtung bestätigt sich durch die weitere Feststellung, daß die Vorstufen später zahlreicher vertreten sind als die Granulocyten. Ihre Minderzahl ist einmal bedingt durch ihre leichtere Capillargängigkeit infolge ihres geringeren Volumens als das der myeloischen Vorstufen, die Voraussetzung für die Leukocytose des peripheren Blutes ist; zum andern aber lassen die reifen Granulocyten eher regressive Veränderungen erkennen. Diese zur Isolierung pyknotischer und verformter Kerne führende Cytolyse auch der Riesenzellen löst hier in der Lunge ebensowenig eine Endothelreaktion aus wie der gleiche Vorgang an den in besonders engen Capil-

laren, z. B. der Nebennierenrinde und der Hypophyse, embolisch angehäuften Zellen. Da der Lungenstopp schon nach 6 Std (K 439) und somit zu einer Zeit deutlich wird, in der Granulocyten und Jugendformen auch nicht metaplastisch entstanden sein können, sind diese embolisierten reifen und auch schon unreifen Zellen nur auf abgesiedelte Markzellen zu beziehen. Möglicherweise wird diese Anhäufung begünstigt durch eine Eigenschaft der myeloischen Zellen selbst, die als Phänomen der Leukergie auf eine Klebrigkeit der Oberfläche gerade der frisch aus dem Mark eliminierten Zellen zurückgeführt wird (FLECK).

Diese Filterfunktion der Lunge aber kann keine absolute sein, da im peripheren Blute auch die Vorstufen mit steigender Leukocytenzahl zunehmen (vgl. Tabelle 1). Vielleicht verstärken sie auch über den fakultativen Kurzschluß geöffneter arterio-venöser Anastomosen die leukämoide Prägung des peripheren Blutes. Die vergleichende Bestimmung der Leukocytenzahl aus der rechten und linken Herzkammer läßt nicht auf eine grundsätzliche Arretierung normalerweise blutfremder Zellen in der Lunge schließen.

d) Das pathogenetische Prinzip der hämatogenen Absiedelung ist in einer Störung der regelrechten Eliminierung der im Knochenmark gebildeten Blutzellen zu suchen, ihr Angriffsort die Mark-Blut-Grenze.

Hämapoese und Blutbild werden nervale (ROSENOW) und hormonal (DOUGHERTY) gesteuert, aber auch humoral beeinflusst, wie Parabioseversuche ergaben (REISSMANN). Der Bildungsort hämopoetischer, für die einzelne Blutzellreihe spezifischer Wirkstoffe wird in der Leber (BEER), vor allem aber in der Milz (RUHENSTROTH-BAUER) und dem Knochenmark selbst (HETENYI) gesehen; sie sind im Harn nachweisbar (MILLER und TURNER, R. ABDERHALDEN). Die Regulierung der Hämapoese und damit auch der Mark-Blut-Grenze ist also sehr komplexer Natur, die Möglichkeit einer Störung also vielfältig.

Ob oder wie die nervale oder hormonale Steuerung der markständigen Hämapoese durch Anämisierung oder Saponinintoxikation beeinflusst wird, ist vorerst unbekannt. Unsere Befunde lassen vielmehr an einen humoral sich auswirkenden Faktor denken. Die funktionelle Wertigkeit der Mark-Blut-Grenze ist histologisch an die Sinusoide gebunden, deren morphologisches Korrelat nur aus dem Feinbau des Knochenmarkes verstanden werden kann.

Die Annahme einer festgelegten Blutbahn im Mark in Gestalt gewöhnlich strukturierter Capillaren kann nur die Eliminierung aktiv beweglicher Zellen erklären und damit nur die amöboide Emigration der Granulocyten; der Übertritt aller nichtbeweglichen Markzellen in das Blut ist schon nicht mehr zwanglos zu deuten. Da aber die leukämoide myeloische Reaktion sicher nicht mit einer dystopen metaplastischen Myelopoese einhergeht (HECK u. HALL, GEISSLER u. WÜRM u. a.), können die Vorstufen nur aus dem Mark stammen. Das gilt auch für die Blut- und Organveränderungen bei der gewöhnlichen Myelose, mit dem Unterschied der einer autonomen Hämoblastose entsprechenden fortgesetzten Wucherung — aber nicht metaplastischen Entstehung — am fremden Ort innerhalb und außerhalb der Blutbahn mit zunehmender Anfüllung und neoplastischer Sprengung des üblichen Lebensraumes dieser Zellen [FRESEN (c)]. Die Auschwemmungssperre wird also unter reaktiver Beanspruchung der markständigen

Blutzellbildung ebenso durchbrochen wie von der neoplastischen Wucherung der Blutzellen ignoriert. Die Erklärung, nach der die Bildungsherde durch Druckanstieg zum Aufbruch in die Blutbahn führen sollen, bleibt bei der Beachtung der Markraumanatomie ebenso Hypothese wie die Verlegung der Erythropoese in die sinösen Blutbahnabschnitte des Markes. Die Mobilisierung der Markzellen zu Blutzellen ist offensichtlich an besondere Verhältnisse der Permeabilität dieser Mark-Blut-Grenze gebunden. Diese Folgerung wird zur unabdingbaren Voraussetzung für das Verständnis dieses Vorganges durch die am Kaninchenmark getroffene Feststellung, daß die Eliminierung der blutreifen Markzellen durch eine Auflösung der Bildungsherde erfolgt (DRINKER, DRINKER u. LUND, ISAACS); der gleiche Vorgang besteht bei der Hämopoese des Hühnchens (SABIN) und ist in der Kultur für die Mobilisierung der Histioeyten beobachtet worden (MUHLERTHALER). Die Permeierbarkeit der Sinusoide für blut Zellige Mark Elemente ist aber richtungsgebunden; ein Rücktritt von Blutzellen in das Markstroma erfolgt nicht. So blieb in unseren Versuchen das Mark trotz hoher Blutleukocytose weiterhin zellarm; intravenös injizierte individualfremde Blutzellen werden nicht im Mark angereichert (OSOGOE).

Das Markstroma besteht aus dem syncytial-fibrillären Verband der Reticulumzellen, in den die Hämopoese eingebettet ist. Die Uferzellen der venösen Sinusoide, in die hinein die Mobilisierung der blutgehörigen Markzellen erfolgt, sind als endothelartig verformte Reticulumzellen in diese Grundstruktur organisch einbezogen (vgl. auch BARGMANN). Die Ergebnisse der Speicherversuche mit grobmolekularer Tusche am Kaninchen hatten uns früher gezeigt, daß diese Sinusoide schon unter nicht hämopathischen Bedingungen eine makromolekulare Permeabilität besitzen; sie ergibt sich aus der Fasernetzstruktur dieser Gitterrohre, die auch elektronenoptisch nachgewiesen ist (v. HERRATH). Die Ablösung aus dem Mark hinterläßt in dem netzigen Stroma Lücken, die — von Reticulumzellen umgeben — zu neuen Sinusoiden werden (HASHIMOTO). Diese Mark-Blut-Grenze ist zwar histomorphologisch durch den syncytial-fibrillären Verband der reticulären Uferzellen charakterisiert, aber doch formal variabel und topisch fluktuierend. Die Annahme getrennter Strombahnen für die Ernährung und für die Ableitung der Blutzellen (PATRASSI) erübrigt sich daher. Aus der histomorphologischen Struktur ergibt sich also die im Markstroma und damit gleichzeitig für das blut Zellige Parenchym bestehende Labilität der Permeabilitätsverhältnisse, die ihrerseits den physiologischen Modus der Eliminierung verständlich macht.

Diese Feststellung erlaubt, den Mechanismus der Beeinflussung der orthologischen Hämopoese durch Anämisierung und Saponin-intoxikation auf eine Störung der Permeabilität der formvariablen Marksinusoide zu beziehen. Da diese Störung in beiden Tiergruppen humoral ausgelöst wurde, kann — unbeschadet der unter den „Stress“ eines großen Blutverlustes und des Saponins einsetzenden generellen Regulierung der Hämopoese — der auslösende Faktor in der Blutflüssigkeit vermutet werden.

Für die durch Anämisierung erreichte Beeinflussung des Blutbildes und des Knochenmarkes der Tiere der Gruppe I lassen sich 3 Momente wahrscheinlich machen. So tritt im Blute anämisierter Kaninchen eine in der Hitze labile Substanz auf, die mit dem Serum übertragen bei anderen anämisierten aber auch bei gesunden Kaninchen nicht nur eine Vermehrung der Erythrocyten bewirkt (TEI) sondern auch zu einem Anstieg ihrer sonst blutfremden Vorstufen führt (HODGSON u. TOHA). Ein anderer Stoff, der nach Unterbindung der A. nutritia im zugehörigen anoxischen Markbereich entsteht, wirkt sich gleichfalls über das Blut im Sinne einer universellen Mobilisierung der Markzellen aus (HETENYI). Nun ruft vor allem der kurzfristige wiederholte Verlust von  $\frac{1}{7}$  der Gesamtblutmenge eine starke Ausschwemmung markständiger Vorstufen der roten Blutzellreihe hervor. Mit der Bestimmung des Zellgehaltes des Markes läßt sich zeigen, daß die reaktiv-hyperplastische Hämpoese nicht mit einer erhöhten Eliminierung von unreifen Zellen einhergeht; sie folgt vielmehr erst der akuten Ausschüttung und überdauert auch die schon weitgehend rückgebildeten Blutveränderungen. So liegt der Schluß nahe, daß die Hypoxämie infolge der akuten und innerhalb von 96 Std noch nicht kompensierten Einbuße an roten Blutzellen selbst die Ausschwemmung der unreifen Vorstufen veranlaßt, während der erst im Serum der anämisierten Tiere zu bildende Faktor die markständige Erythropoese stimuliert. Dem Sauerstoffdefizit kommt sicher eine zentrale Bedeutung für eine verstärkte Eliminierung zu; der Anstieg der Reticulocyten und Erythroblasten bei herabgesetztem Partialdruck und ungenügender Utilisation des Sauerstoffes bei Mensch und Tier ist dafür Beleg (HEILMEYER); auch unterbleibt nach Sauerstoffsättigung des Serums anämisierter Kaninchen die Bildung dieser erythropoetischen Substanz bzw. seines Eliminierungsfaktors.

Durch die Anämisierung werden aber auch Leukocyten und ihre Vorstufen aus dem Mark mobilisiert. Hierfür aber darf abgesehen von noch nicht näher bestimmten leukopoetischen Stoffen, deren Wirkungsmechanismus zudem noch unbekannt ist, der Einfluß eines Sauerstoffmangels bei posthämorrhagischer Oligämie auf die Permeabilität der Mark-Blut-Schranke ganz allgemein nicht unberücksichtigt bleiben. Die dysorischen Folgen der durch die posthämorrhagische Oligämie verstärkten Hypoxydose für die Blut-Gewebs-Schranke sind von BÜCHNER und MEESSEN ausführlich dargelegt worden; sie werden sich an Stellen erhöhter Durchlässigkeit besonders auswirken (RÖSSLE), wie sie für die netzig strukturierten Sinusoide des retothelialen Systems allgemein vorliegt und sich speziell für die Marksinusoide schon normaliter in dem Eliminierungsprozeß der ausgereiften Markzellen manifestiert. Es erscheint deshalb nicht abwegig, die auf den Blutverlust jeweils

ansteigende Eliminierung schon reifer und noch dem Mark verhafteter Formen auch der myeloischen Reihe auf eine oligämisch-hypoxydotisch bedingte Erhöhung der Permeabilität der besonders empfindlichen Mark-Blut-Grenze zu beziehen. Eine solche Permeabilitätsstörung durch Lockerung des Gefüges muß nicht grundsätzlich und wird auch bei den an sich schon formal fluktuierenden Marksinusoiden kaum lichtoptisch faßbar sein, so daß sie nur aus den eingetretenen Folgen erschlossen werden kann. So gesehen, scheint die posthämorrhagisch krisenartige Eliminierung blutbereiter und noch blutfremder Markzellen weniger die Folge einer unter starker Anämisierung im Serum neu zu bildenden Substanz als vielmehr eine Auswirkung der oligämisch verstärkten Sauerstoffschuld auf die Membranfunktion der Sinusoide zu sein.

In diesem Zusammenhange wäre noch zu überlegen, ob der posthämorrhagisch zur Beseitigung der Oligämie und zur Aufrechterhaltung des onkotischen Druckes der Blutflüssigkeit erfolgende Einstrom von Gewebsflüssigkeit mit zur Ablösung der Markzellen und zur Einschwemmung in die Sinusoide und damit in die freie Blutbahn beiträgt. Experimentell lassen sich jedenfalls bei der Durchflutung der Markgefäße mit isotonischen Salzlösungen ausschließlich nur reife, also schon blutgehörige Zellen ausschwemmen (DRINKER, DRINKER u. LUND).

Für die Mark- und Blutveränderungen in Gruppe II darf in bezug auf den Angriffsort und das Wesen der Störung zunächst das gleiche humoral wirksame Prinzip unterstellt werden, weil die Saponintiere ebenfalls anämisiert waren. Aus der vergleichenden Betrachtung der Befunde bei diesen Tieren gegenüber denen der Gruppe I aber ergibt sich eine erheblich stärkere und länger anhaltende Störung der Hämo-poese, die zwar ebenfalls auf das Mark beschränkt bleibt aber doch zu einem ausgesprochen leukämoiden Blut- und Organbild führt (vgl. Tabelle 1 und Abb. 2). Diese Intensivierung der Eliminierung reifer und unreifer Formen der weißen und roten Blutzellreihe aus dem Mark ist offensichtlich durch das Saponin bedingt. Saponine sind im Pflanzenreich verbreitete stickstofffreie Glykoside, die als Schaumbildner Emulsionen stabilisieren; parenteral wirken sie hämolytisch und toxisch auf das Zentralnervensystem. Ihre Hämolysewirkung wird offenbar seit BUNTING (1906) immer wieder für die Erklärung der unter Saponin auftretenden Veränderungen in Blut und Knochenmark im Sinne einer Blutzerstörung herangezogen. Während die interkurrent verendeten Tiere der Gruppe II die zentraltoxische Wirkung an aufsteigenden schlaffen Lähmungen zu erkennen gaben, läßt sich die wiederholt den Mark- und Blutbefunden subsummierte hämotoxische Eigenschaft für die verwandte Dosis von 2 mg/kg Körpergewicht weder hämatologisch noch histo-morphologisch erkennen. Eine auffällige Hämosiderose der Ufer- und Reticulumzellen liegt nicht vor; Hämoglobinzylinder in den Nierenkanälchen finden sich nicht. Die Erythrocytenzahlen im peripheren Blut verhalten sich während der Versuchsdauer im wesent-



lichen ähnlich wie bei den nur anämisierten Tieren (vgl. K 454 mit K 148). Im Knochenmark ist die Erythropoese hyperplastisch, die bei relativ stärkerer Ausschüttung der myeloischen Elemente auch im zellarmen Mark (K 433, K 407, K 171) das quantitative Verhältnis der Markzellen zugunsten der roten Blutzellreihe verschiebt. Ein hämotoxischer Faktor des Saponins kann somit die akute und intensive Störung der medullären Hämpoese nicht erklären. Daher sei hier nachdrücklich auf KOBERT (1904) verwiesen, nach dem die toxische Hämolyse erst bei einer 100fach stärkeren Dosis eintritt, als sie bei den erwähnten und eigenen Tierversuchen gegeben wurde. Vielmehr deutet diese „hämotoxische“, zur leukämoiden Kolonisierung der Markzellen führende Wirkung des Saponins auf einen erheblichen Schaden der Mark-Blut-Grenze hin, der im Gegensatz zu Gruppe I auch histomorphologisch zu belegen ist.

Bei der Besprechung der Befunde konnte wiederholt auf Blutungen im Knochenmark hingewiesen werden. Diese Blutungen im Markparenchym traten erstmalig nach 6 Std und zunächst umschrieben auf und gingen mit einer gewissen Verquellung der Wand größerer Capillaren einher; nach 36 Std waren die Markzellen im Bereich der jetzt ausgedehnteren Blutungen nur noch schattenhaft zu erkennen, auch nach 72 Std (K 171) fanden sich noch größere und nach 120 Std (K 454) noch kleine frische Blutungen. Die ausgedehntesten Blutungen lagen im Mark der Tiere vor, die innerhalb von 24 Std bei starker Reduzierung seines Zellgehaltes gleichzeitig die höchsten Leukocytenwerte im Blut mit starker Beteiligung der Vorstufen aufwiesen (vgl. Tabelle 1, K 432, K 473, K 472). Diese Relation zwischen der akut einsetzenden, bis zu 36 Std progredienten Entleerung des Markes und dem im gleichen Zeitraum erreichten Maximum der Blutleukocytose ist besonders beim Vergleich mit den Befunden bei Gruppe I an die Markblutungen geknüpft; sie sind sicher durch das Saponin verursacht. Markblutungen finden sich bei BUNTING, FIRKET und OMURA u. OSOGOE erwähnt; in ihnen wird mehr eine Hämorrhagie *e vacuo* gesehen nach Art einer Auffüllung entleerter Markbezirke. Da aber das Mark nach 12 Std, also 6 Std nach der erstmalig festgestellten Blutung, bei Änderung des Zellverhältnisses noch keine Einbuße seines Zellgehaltes aufweist, kann die Blutung nicht die Ursache der zuvor einsetzenden Ausschwemmung der verschiedenartigen Markelemente sein; sie ist vielmehr erst die histologisch faßbare Folge der primär durch das Saponin pathologisch erhöhten Permeabilität der Sinusoide und der Capillaren; die Sinusoide sind dann nicht mehr abzugrenzen, die Capillaren von Blutseen umgeben und durch Insudation wandverquollen. Durch die Blutungen und den infolge der Stase zunehmenden Sauerstoffmangel tritt eine Auflösung der Markstruktur ein; so werden sie Anlaß für eine weitere

Mobilisierung der Markzellen, bevor diese nach 48 Std im Blutungsbereich nekrotisch geworden sind. Zum gleichen Zeitpunkt wird die Blutleukocytose rückläufig; der Zellgehalt des Markes nimmt langsam wieder zu.

Diese histologischen Markbefunde charakterisieren den Wirkungsmechanismus des Saponins, das nur „hämotoxisch“ in dem Sinne ist, daß es gegenüber der nur oligämisch-hypoxydotischen Permeabilitätsstörung in Gruppe I offenbar durch seine seifige Eigenschaft zu einer ungleich stärkeren, mit Diapedesinblutungen einhergehenden Störung der Mark-Blut-Grenze führt. In diesem Zusammenhange sei vermerkt, daß das Blutserum Leukosekranker beim Kaninchen zu einer leukämoiden Ausschwemmung von Knochenmarkzellen führt, die an die größere Oberflächenspannung dieses Serums gebunden sein soll (COSTA u. CIPRIANI).

Die Schädigung der Blut-Gewebs-Schranke durch Saponin ist allgemein. In der *Leber* treten gleichfalls nach 12 Std die ersten Blutungen innerhalb der Läppchen auf (K 191), die später mit Leberzellnekrosen vergesellschaftet sind; vielleicht aber sind diese Parenchymnekrosen auch unmittelbar toxisch bedingt, da sie vereinzelt schon nach 6 Std (K 439) noch ohne histologisch erkennbare Permeabilitätsstörung der Sinusoide vorhanden waren. In der *Milz* konnten aufgelockerte Follikel und bis zu 24 Std Blutungen in den Follikeln festgestellt werden (K 191, K 433). In der Rinde der *Nebenniere* fanden sich gleichfalls nach 24—48 Std (K 432, K 433, K 407) Blutungen mit kleinen Parenchymnekrosen. In den Tubuli der *Nieren* erscheinen zwischen 36 und 48 Std einige lockere Eiweißzylinder; schon ihre zeitliche Bindung an die Dauer der Saponineinwirkung läßt sie als Folge einer toxischen Schädigung der Glomeruluscapillaren verstehen, die bei K 432, dem Tier mit den ausgedehnten Blutungen in Knochenmark und Leber, zum Bilde einer leicht hämorrhagischen Nephrose geführt hat. Diese außerhalb des Markes bestehenden Hämorrhagien und Nekrosen sind zeitlich an die aus der Mark-Blut-Relation ablesbaren Wirkungsdauer der Saponinintoxikation von 48 Std gebunden; ihre Lokalisation kennzeichnet die Stellen erhöhter Permeabilität der Blutstrombahn, wie sie außerhalb der Sinusoide von Leber und Milz auch wohl für die Capillaren der Nebennierenrinde auf Grund der hier leicht eintretenden perivasalen histiocytären Speicherung gefolgert werden darf.

Im Rahmen der in Gruppe II beobachteten Organbefunde ist noch das sporadische extravasale Vorkommen myeloischer Zellen in den *Lymphknoten* zu erwähnen. Nach v. SCHUMACHER könnte ihr Auftreten in den Sinusoiden durch Anastomosen mit den Venen erklärt werden; da aber auch hier in den Lymphknoten deutliche Zeichen einer Störung der Blut-Gewebe-Schranke mit aufgelockerten Follikeln und Blutungen in den Follikeln und Marksträngen vorliegen, kann der Übertritt der Blutzellen in die Lymphsinusoide sehr wohl Folge dieser durch das Saponin erhöhten Permeabilität sein.

Die morphologische Betrachtung der experimentellen Ergebnisse darf somit den Mechanismus der reversiblen Störung der medullären Hämoopoese in beiden Tiergruppen in einer oligämisch-hypoxydotisch erhöhten Durchlässigkeit der Mark-Blut-Grenze im Bereich der Sinusoide erblicken; ihre schon für die physiologische Mobilisierung blutreifer Markzellen variable Struktur erfährt durch Saponin eine gesteigerte Permeabilität, die histologisch an den Blutungen zu erkennen ist.

## C

Im peripheren Blut der Versuchstiere wurden keine *Riesenzellen* gesehen; sie sind aber bei der histologischen Untersuchung in den Organen der Gruppe II vorhanden.

Abgesehen von einer einzigen Riesenzelle in der Milz nach 1 Std (K 456) treten sie erstmalig nach 36 Std (K 432) in der Lunge und in der Milz und nach 48 Std (K 407) auch in den Sinusoiden der Leber auf. Nach 72 Std zeigen sie eine beginnende Unschärfe des Plasmarandes sowie eine Schrumpfung und Pyknose des Kerns; dabei finden sich dann im Plasma der Riesenzellen einige gut erhaltene Granulocyten, die weniger den Eindruck phagocytierter Elemente machen sondern vielmehr bei der Auflösung der Riesenzellen beteiligt zu sein scheinen. Unter völligem Verlust des Plasmas finden sich die verformten Kerne eingeklemt in die Lungencapillaren, in denen sich die Riesenzellen und ihre Abbauförmungen in den späteren Versuchsphasen anhäufen (K 171, K 454); nach 72 Std sind sie auch in den Capillaren der Nebennierenrinde und der Hypophyse anzutreffen. Außerhalb der Sinusoide von Milz und Leber finden sich eigentlich nur weitgehend regressiv veränderte Riesenzellen; Teilungsprozesse wurden nicht beobachtet.

Riesenzellen sind auch beim Kaninchen regelhaft nur markständig aber keine obligaten Blutzellen. Extramedullär treten sie nach fortgesetzter Anämisierung in den Lungencapillaren auf, wo sie nach 3 Tagen nekrotisch sind (OGATA); im Saponinversuch haben sie FABRIS und CUSTER vorwiegend in der Milz und Leber und OMURA u. OSOGOE frühzeitig auch in den Lungencapillaren feststellen können. Schwierigkeiten ergeben sich bei dem Bemühen, die beim *Menschen* im Rahmen hämatologischer Prozesse auftretenden Riesenzellen nach ihrer funktionellen Wertigkeit und Ableitung zu bestimmen. In den spontanen heterotopen Blutbildungsherden markartigen Gepräges läßt sich ihre formale Evolution aus der reticulumbilligen Matrix histologisch erkennen [FRESEN (a)]. Unter den durch Riesenzellen bestimmten Leukosen verbergen sich sicherlich mehr Myelosen mit kataplastischen Zellformen (ROTHLIN u. UNDRITZ) und riesenzellige Begleitreaktionen des retothelialen Systems im Sinne einer Myeloretikulose [FRESEN (b)] als sog. Megakaryocytenleukosen, deren mehrkernige Elemente, die genetisch auf die Uferzellen der Sinusoide als einem zugehörigen Mutterboden bezogen werden (HAGIO), niemals eine Thrombocytopoese aufweisen. Phagocytoseerscheinungen würden den allgemein präjudizierten reticulumbilligen Charakter stützen (ESBACH, KOPAC). Auch entzündlich ausgelöste Reaktionen des retothelialen Systems können ebenso zu einem mono-makrophagocytären Blutbild föhren (ABRIKOSOFF, SCHILLING), wie die unterschiedlich hämoblastisch differenzierte Reticulose [FRESEN (b)]. Diese mehrkernigen Zellen werden wegen ihrer gestaltlichen Ähnlichkeit mit den Riesenzellen im Knochenmark allgemein als Megakaryocyten gewertet, obwohl ihre funktionelle Bedeutung im Einzelfall unbekannt ist.

Die Besprechung der formalen Genese der beim Saponinversuch im Kaninchen extramedullär erscheinenden Riesenzellen folgt der oben für die Entwicklung der Blut- und Organveränderungen erörterten 4 Modalitäten; dabei steht die Tatsache einer entzündlich-riesenzelligen Reaktion des jeweils ortsständigen retothelialen Systems, wie sie MALYSCHEW und KUCZINSKI gesehen haben, nicht zur Diskussion.

Bei Beachtung der cytologischen und histomorphologischen Gegebenheiten können die Riesenzellen gleich welcher Lokalisation weder auf eine Proliferation der Blutzellen am ungewöhnlichen Ort noch auf eine Einwanderung aus den gefäßgebundenen Indifferenzzonen bezogen

werden. Ihre lokale Entstehung aus den Uferzellen in Milz, Lymphknoten und Leber wurde vor allem von CUSTER vertreten. Unsere histologischen Befunde bieten aber für eine derartige Transformierung keinen Anhalt; eine Proliferation der Uferzellen mit Verdichtung und Aufbruch des Fasernetzes bestand nicht (vgl. Abb. 5b); vielmehr ist die gelegentliche lokale Mobilisierung von Sternzellen entweder an die zuweilen hämorrhagischen Parenchymnekrosen oder an die embolisch verklumpten verschiedenartigsten Blutzellen mit regressiv veränderten Riesenzellen gebunden. Auch für die Uferzellen der Sinusoide der Milz, in denen nach unseren Beobachtungen zuerst megakaryocytaire Riesenzellen auftreten, läßt sich keine gerichtete Proliferation oder direkte Transformierung erkennen (Abb. 5c). Wenn diese unter Saponin auftretenden Riesenzellen allgemein Ausdruck einer humoral induzierten rethelial-histiocytären Reaktion wären, müßten sie wenigstens gelegentlich auch in der adventitiellen Keimschicht zur Beobachtung kommen, wo sie aber ebenso fehlen wie in den Sinusoiden der Lymphknoten. Eine reticulumzellige Eigenschaft der Riesenzellen läßt sich auch nicht aus der Anwesenheit von Granulocyten in ihrem Plasma folgern; da diese als formal intakte Zellen erst in den späten Versuchsphasen an und in den Riesenzellen auftreten (vgl. Abb. 6), ist es naheliegend, die vorgeschrittene Auflösung gerade dieser Riesenzellen auf die verdauende Eigenschaft der Granulocyten zu beziehen. Auch die Tatsache, daß an und in den Riesenzellen immer nur reife myeloische Zellen aber nie die doch zahlreich vorhandenen unreifen und damit doch blutfremden Formen angetroffen werden, spricht gegen eine Phagocytoseeigenschaft der Riesenzellen.

Bei begründetem Ausschluß einer lokalen Entstehungsmöglichkeit müssen auch diese in der Blutbahn erscheinenden megakaryocytären Riesenzellen auf den Modus der für die Blut- und Organbefunde belegten Kolonisierung aus dem Knochenmark, als ihr physiologischer Bildungsort, bezogen werden. Abgesehen von der durch den Zeit-Reihenversuch nicht zu belegenden metaplastischen Entstehung spricht für ihre hämatogene Absiedelung die mit der progredienten Markentleerung abnehmende Anzahl der Riesenzellen im Mark und ihre embolische Anhäufung in den Lungencapillaren. Wir sahen eindeutige riesenzellige Formen erst nach 36 Std, wollen aber nicht ausschließen, daß unter den schon nach 12 bzw. 24 Std (K 191, K 433) verklumpten Zellen mit pyknotischen Kernen sich auch deformierte Riesenzellen oder deren isolierte Kerne befinden können.

Die embolische Anhäufung der Riesenzellen im kleinen Kreislauf, die OGATA beim Kaninchen auch nach intravenöser Injektion art-eigenen Markgewebes gesehen hatte, macht ihre Abwesenheit im peripheren Blut verständlich; gleichzeitig aber erschwert diese Feststellung

die Deutung der Tatsache, daß nach 36 Std gleiche Riesenzellen in den Sinusoiden der Milz und Leber auftreten und später auch vereinzelt mit regressiven Erscheinungen in den engen Capillaren der Nebennierenrinde und der Hypophyse anzutreffen sind (vgl. Abb. 8b und c). Da sie aber zunächst durchaus regelrecht strukturiert und formal als intakt zu bezeichnen sind, können sie in dieser Form nicht das Filter der Lungen capillaren passiert haben. Bei histologischem Ausschluß einer metaplastischen Entstehung besteht nur die Möglichkeit, sie aus entsprechenden medullären Vorstufen abzuleiten. Die Megakaryocyten regenerieren sich aus basophilen, myeloblastenähnlichen Stammzellen (ROHR), die der Reticulumzelle noch nahestehen sollen (SCHWARZ). Daher darf angenommen werden, daß infolge der intensiven Ausschwemmung verschiedenartigster Zellen aus dem Mark auch Megakaryoblasten eliminiert werden, mit den anderen Vorstufen der myeloidischen Blutzellreihe in gewissem Ausmaß gleichfalls das Lungenfilter zu passieren vermögen, um sich offensichtlich bevorzugt in den Sinusoiden der Milz in und für einen begrenzten Zeitraum von 36 Std zu megakaryocytyären Elementen weiterzubilden. Daß extramedullär eine derartige formale Ausreifung überhaupt möglich ist, läßt sich daraus erkennen, daß z. B. bei K 456 1 Std nach Versuchsbeginn, also noch vor der Manifestierung der Saponinwirkung, eine derartige Riesenzelle in der Milz gesehen wurde, die wegen der Kürze der Versuchsphase als präexistent angesehen werden muß. Offensichtlich kommen beim Kaninchen schon unter normalen Mark- und Blutverhältnissen vereinzelte Megakaryocyten in dem der Lunge nachgeschalteten Abschnitt des großen Kreislaufes vor. Das scheint auch für den Menschen zuzutreffen; so folgern BRILL u. HALPERN aus ihren histologischen Untersuchungen, daß auch ohne heterotope Hämo poese eine geringe Anzahl von Megakaryocyten im Blutstrom kreist und bestätigen damit eine ältere Angabe von GORONCY. Diese aus dem Saponinversuch zu folgernde formale Weiterbildung eliminiert er Vorstufen zu Riesenzellen läuft sehr wahrscheinlich nach dem für die markständige Entwicklung der Megakaryocyten geltenden Prinzip der zur Polyploidie führenden Endomitose bzw. Endoamitose ab; jeder einzelne Megakaryocyt kann daher nur aus einer Vorzelle entstanden sein. Dieser Vorgang ist an die Phase der hämatogenen Kolonisierung gebunden und somit zeitlich begrenzt. Damit ordnen sich alle extramedullär angetroffenen Megakaryocyten grundsätzlich in den reversiblen Prozeß der versuchsbedingten leukämoiden Blut- und Organveränderungen ein.

#### D

Diese im Rahmen der experimentell ausgelösten Reaktion beobachtete und bei den Leukosen sich wiederholende Ansammlung der

Zellen und ihr im Versuch verfolgtes längeres Verweilen in den Sinusoiden ist weder aus deren feingeweblichem Bau noch aus hämodynamischen Bedingungen, etwa durch Stranden überzähliger oder blutfremder Zellen nach Art des Lungenfilters oder einer hämatogenen Metastasierung (APITZ), befriedigend zu erklären. Vielleicht besteht im Bereich dieser ebenso wie das Knochenmark in die Blutstrombahn eingeschalteten extramedullären Provinzen des retothelialen Systems auf dem Boden einer durchaus ähnlichen Textur für die kolonisierten Markzellen, also für die noch blutfremden Vorstufen, ein verwandtes oder zumindest doch nicht abträgliches Milieu, wie es offenbar in der Lunge vorliegt; denn intravenös injizierte individualfremde Blutzellen sammeln sich gleichfalls in Milz und Leber an (OSOGOE); auch die übertragbare Leukose der Maus (BURNES u. FURTH), das Chlorom der Ratte (ROUSSY und GUÉRIN) und die Hühnerleukose (DARCEL) lokalisieren sich nach Verimpfung auch im individualfremden Milieu unter Wahrung ihres Zellecharakters bevorzugt in den Sinusoiden, wo auch die vikariierende Regeneration der Blutzellen bei markverödenden Erkrankungen einsetzt. Trotz dieser bevorzugten Anhäufung und längeren Verweildauer ist eine Proliferation der myeloischen Vorstufen nicht eingetreten; die vereinzelt Mitosen sind für die Massierung der Blutzellen innerhalb der Sinusoide bedeutungslos. Die Frage, ob in diesen besonders strukturierten Blutbahnabschnitten eine gewisse formale Differenzierung auch der anderen noch nicht blutreifen Zellen erfolgt, kann vorerst nicht erörtert werden; sie ergab sich erst bei der Auswertung der histologischen Befunde.

Anhäufung und Verweildauer der verschiedenen reifen und unreifen Blutzellen in Milz und Leber zeigen eine in ihrer Topik auffällige Parallele zur Verteilung der Myelose des Menschen, deren leukämisches Erscheinungsbild infolge der Ausschwemmungssperre für unreife Zellen im wesentlichen von dem Ausmaß der extramedullären leukotischen Zellbildung geprägt würde. Ohne hier auf dieses das formal-genetische Prinzip einer Hämoblastose berührende Problem einzugehen, kann hier auf Grund der Experimente festgestellt werden, daß das leukämoide Blutbild ausschließlich von der in ihrer labilen Permeabilität gestörten Mark-Blut-Grenze bestimmt wird; Quantität und Qualität des Zellgehaltes der Lebersinusoide lassen keine regelhafte Beziehung zur Höhe und Formel der Blutleukocytose erkennen. Diese Feststellung läßt sich auch für die Milz treffen. In Abb. 2 ist auf der Grundlinie das Milzgewicht der Tiere beider Gruppen in Gramm abgetragen; um einen Vergleich der Milzgrößen unter den Tieren und zu den Blutleukocyten mit Berücksichtigung ihrer Vorstufen zu ermöglichen, sind die absoluten Blutwerte in Prozenten angegeben und das Milzgewicht auf das Gewicht des Tieres bezogen. So findet sich in Gruppe I der geringste Leuko-

cytenanstieg bei dem Tier (K 148), das das größte absolute und relative Milzgewicht hat. Auch bei den Tieren der Gruppe II ist der maximale Leukocytenwert nicht an ein maximales Milzgewicht gekoppelt. Die Gegenüberstellung von K 407 und K 472 und von K 408 und K 432 mit ungefähr gleichem absoluten und gleichem relativen Milzgewicht macht deutlich, daß der Grad der Leukocytose und die Menge der Vorstufen im peripheren Blut nicht erkennbar abhängig sind von der Milzgröße; auch die Versuchsdauer bleibt hier ohne Einfluß.

Die vergleichende Auswertung beider Versuchsgruppen zeigt, daß nur der Saponinversuch zu solchen Veränderungen in Blut und Organen führt, die formal dem allgemein gehaltenen Begriff einer „myeloischen Metaplasie“ zuzuordnen wären. Ihre generelle Bezeichnung und damit übliche Wertung als „myeloische Metaplasie“ entbehrt jedoch für die über einen Zeitraum von 5 Tagen verfolgten leukämoiden Blut- und Organveränderungen der histomorphologischen Begründung. Dies unter kritischer Auswertung der tierexperimentellen Ergebnisse und unter Betrachtung verwandter humanpathologischer Veränderungen herauszustellen und abzuklären, war Vorwurf dieser ersten orientierenden Untersuchungen.

Jedes Experiment ist eine Frage an die Natur. Die Frage aus der Problematik heraus zu stellen, schließt in gewissem Sinne schon eine vermutete Lösung ein. Der negative Ausfall im Sinne des ausgerichteten Experimentes wird dann eintreten, wenn die Natur keine oder eine vieldeutige Antwort gibt. Das kann vorkommen, wenn die Frage nicht klar gestellt oder der Versuch nach Material und Methodik nicht zweckmäßig angelegt war. Sicherlich ist das Ergebnis des Tierversuches nicht allein entscheidend für die Klärung humanpathologischer Veränderungen. Aber für diese unabdingbaren Voraussetzungen bezüglich der hier zunächst orientierend angegangenen Fragestellung kann doch abschließend festgestellt werden, daß die Frage nach einer metaplastischen Blutzellbildung konkret ist; sie ist tierexperimentell unter lokaler Irritation gesichert; beim Menschen besteht sie schon unter physiologischen Verhältnissen für die Monocyten und Plasmazellen und führt als neoplastische Äußerung des retothelialen Systems mit dem Substrat der Retikuloze zum Bilde der retothelialen Hämoblastosen [FRESEN(b)]. Das Tiermaterial ist der Fragestellung adäquat, weil Art und Ort der Hämopoese sich bei Mensch und Kaninchen weitgehend entsprechen (ASKANAZY) und weil nach vergleichenden Untersuchungen eine für die Auswertung der Versuche ausreichende Identität bezüglich Lokalisation, Struktur und Funktion des retothelialen Systems besteht [FRESEN(a)]. Wenn trotzdem das Ergebnis anders als erwartet lautet, ist die Ursache in der Methodik zu suchen. Für die Bewertung und besonders für die vergleichende Betrachtung der aus den Tierversuchen

gezogenen Rückschlüsse auf die Verhältnisse beim Menschen sind die abweichenden Versuchsbedingungen und innerhalb der einzelnen Methode das Ausmaß und die Intensität der Störung der Hämpoese ebenso zu berücksichtigen, wie die zeitliche Ausdehnung der Versuche und damit der Zeitpunkt der hämatologischen und histologischen Befunderhebung. Die Bedeutung dieser Faktoren erhellt beispielhaft aus den abweichenden Ergebnissen aber auch unterschiedlichen Deutungen der bisherigen Untersuchungen an anämisierten oder mit Saponin behandelten Tieren. Ihre Nichtbeachtung kann leicht zu Schlüssen führen, die dem Wesen des Experimentes nicht gerecht werden, wie auch die Kontroverse zwischen STERNBERG und E. MEYER zeigt. So kann experimentell keine extramedulläre Hämpoese erwartet werden, wenn die notwendige Störung der medullären Hämpoese gleichzeitig auch das Prinzip der Blutzellbildung an sich inhibiert, wie das am Beispiel der kausal variablen Agranulocytose oder der genuinen Panmyelophthase deutlich wird. Das Saponin ist in diesem Sinne nicht „hämotoxisch“; es führt zwar über die Permeabilitätsstörung der Mark-Blut-Grenze zu einer erheblichen und auch akuten Entleerung aber doch nicht zu einer irreversiblen Hemmung der hämpoetischen Funktion des Markes. Aus dieser offenbar quantitativ ausreichenden Regenerationsfähigkeit des Markes nach nur einmaliger Saponingabe ist vorerst zu verstehen, daß weder eine Intensivierung der präexistenten extravasalen Blutzellherde im gefäßführenden Bindegewebe des Thymus noch eine myelopoetische Aktivierung der gefäßgebundenen Keimschichten oder eine Transformierung der Uferzellen innerhalb der Versuchsdauer als Ausdruck einer vikariierenden Blutzellbildung eingetreten sind, wie sie LANG für den chronischen Saponinversuch angegeben hat. In diesem Sinne ist das negative Ergebnis des akuten Saponinversuches gleichzeitig Programm für das weitere Bemühen um experimentelle Bedingungen, welche erst die Voraussetzung für die Untersuchung der formalen Genese der myeloischen Metaplasie mit den Methoden der Histomorphologie schaffen.

### Zusammenfassung

1. Im Hinblick auf die unterschiedliche Deutung der „myeloischen Metaplasie“ soll am Tier die formale Genese humoral induzierter heterotoper Blutzellherde untersucht werden. Nach tierexperimentellen und humanpathologischen Befunden ist die Frage nach einer metaplastischen Blutzellbildung konkret.

2. Die analog zu human-pathologischen Bedingungen notwendige Störung der orthologischen Hämpoese wurde durch Anämisierung und zusätzliche Saponingabe am Kaninchen zu erreichen versucht, das einen Vergleich mit formal ähnlichen Verhältnissen beim Menschen



gestattet. Die Experimente sollten hier zunächst nur grundsätzlich orientieren über den Wirkungsmechanismus der Versuchsbedingungen.

3. Die Störung der medullären Hämopoese führt zu einer Zellverarmung des Knochenmarkes, zu einer stark linksverschobenen Blutleukocytose und in den Organen zu einer nach der Versuchsdauer unterschiedlich dichten Anhäufung myeloischer Zellen, Vorstufen und megakaryocytyärer Formen. Diese Veränderungen sind bei den Saponinieren ungleich stärker und innerhalb von 5 Tagen weitgehend reversibel. Die Sinusoide von Milz und Leber bleiben über die Normalisierung des Blutbildes hinaus zellreich.

4. Für die formale Genese dieser an die extramedullären Abschnitte des retothelialen Systems gebundenen Anhäufung myeloischer Zellen ist eine lokale Proliferation auszuschließen. Genetische Beziehungen zu jeweils ortsständigen Zellen des retothelialen Systems waren nicht nachzuweisen; auch die Riesenzellen sind nicht erkennbar an eine Transformierung retothelialer Zellen gebunden. Die präexistente Myelopoese im Thymus war nicht intensiviert, die fakultativ pluripotente gefäßgebundene Keimschicht nicht myelopoetisch aktiviert worden.

5. Demnach ist die heterotope aber grundsätzlich an die Blutbahn gebundene Ansammlung reifer und unreifer Blutzellen auf die versuchsbedingte Eliminierung differenzierter und auch noch undifferenzierter Markzellen zu beziehen, für die eine zeitlich begrenzte Weiterbildung zu Megakaryocyten möglich erscheint.

6. Unbeschadet einer übergeordneten Regulierung der Hämopoese wird der Ort der humoralen Störung im Bereich der Marksinusoide gesehen, ihr Wirkungsmechanismus bei den stark anämisierten Tieren in einer oligämisch-hypoxydotischen Erhöhung ihrer labilen Permeabilität vermutet, die bei den Saponinieren an den Markblutungen kenntlich wird.

7. Die bezüglich der Frage nach der formalen Genese der myeloischen Metaplasie dargelegten Befunde zeigen, daß die Anämisierung aber auch der akute Saponinversuch ungeeignet sind. Weil das Saponin aber im Gegensatz zu anderen „hämotoxischen“ Substanzen nicht gleichzeitig das Prinzip der Blutzellbildung an sich inhibiert, soll methodisch versucht werden, im chronischen Saponinversuch die zur Markinsuffizienz führenden Bedingungen zu schaffen, unter denen eine metaplastische Myelopoese vertreten wird.

### Literatur

- ABRIKOSOFF, A. J.: *Virchows Arch.* **275**, 505 (1929). — ABDERHALDEN, R.: *Experimentia* (Basel) **4**, 114 (1948). — APITZ, K.: *Erg. Path.* **35**, 1 (1940). — ASCHOFF, L.: (a) *Verh. dtsh. Ges. Path.* **1904**, 142. — ASKANAZY, M.: *Virchows Arch.* **205**, 346 (1911). — BARGMANN, W.: *Z. Zellforsch.* **11**, 1 (1930). — BARNES, and J. FURTH: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **33**, 386 (1935). — BEER, A. G., *Fol. haemat.* (Lpz.) **66**, 222

- (1942). — BIERMAN, H., R. BYRON and J. LANMAN: Proc. 3. Congr. Internat. Soc. Hematol. 1951, 274. — BIZZOZERO u. SALVIOLI: Zbl. med. Wiss. **16**, 273 (1879). — BLOOM, W.: Libman Annivers. **1**, 199 (1932). — BLUMENTHAL, R., u. P. MORAWITZ: Dtsch. Arch. klin. Med. **92**, 25 (1908). — BRANDBERG, O.: Acta paediatr. (Stockh.) **30**, Suppl. 1 (1943). — BRILL, R., and M. M. HALPERN: Blood **3**, 286 (1948). — BÜCHNER, F.: Verh. dtsch. Ges. Path. **1944**, 20. — BÜNGELER, W.: Virchows Arch. **270**, 117 (1928). — BÜNGELER, W., u. A. WALD: Virchows Arch. **270**, 150 (1928). — BUNTING: J. of Exper. Med. **8**, 625 (1906). — BUSSE-GRAWITZ, P.: Virchows Arch. **323**, 622 (1953). — CHAKRAVARTI, A.: J. Indiana State Med. Assoc. **23**, 403 (1954). — COSTA, A., u. P. CIPRIANI: Virchows Arch. **323**, 524 (1953). — CUSTER, R. P.: Virchows Arch. **288**, 212 (1933). — DABELOW, A.: Anat. Anz. **87**, Erg.-H., 179 (1939). — DARCEL, C.: J. Comp. Path. a. Ther. **63**, 112 (1953). — DIECKMANN, H.: Virchows Arch. **239**, 451 (1922). — DOAN, G. A., L. G. ZERFAS, S. WARREN and O. AMES: J. of Exper. Med. **47**, 403 (1928). — DOMARUS, A. v.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **58**, 319 (1908). — DOMINICI, M.: Arch. Méd. exper. **13**, 1 (1901). — DOUGHERTY, T. F.: Physiologie. Rev. **32**, 379 (1952). — DRINKER, C. K., K. R. DRINKER and C. C. LUND: Amer. J. Physiol. **62**, 1 (1922). — ELLERMANN, V.: Virchows Arch. **228**, 247 (1920). — ESSBACH, H.: Virchows Arch. **303**, 706 (1939). — FABRIS: Haematologica (Pavia) **7**, 229 (1926). — FIRKET, J.: C. r. Soc. Biol. Paris **85**, 727 (1922). — FLECK, L.: Texas Rep. Biol. a. Med. **9**, 697 (1951). — FOA, P., u. T. CARBONE: Beitr. path. Anat. **5**, 229 (1889). — FRESEN, O.: (a) Verh. dtsch. Ges. Path. **1953**, 26. — (b) Virchows Arch. **323**, 312 (1953). — (c) Zbl. Path. **90**, 135 (1953). — GALL, E. A.: Arch. of Path. **25**, 315 (1938). — GEISSLER, H., u. H. WURM: Klin. Wschr. **1939**, 1212. — GERLACH, W.: Virchows Arch. **270**, 205 (1928). — GIFFEN, H. K.: Amer. J. Path. **23**, 613 (1947). — GORONCY, C.: Virchows Arch. **249**, 357 (1924). — GRUBER, G. B.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **58**, 289 (1908). — HÄSSLER, E., u. C. KRAUSPE: Virchows Arch. **290**, 193 (1933). — HAGIO, K.: Jap. J. Med. Sci., Trans. Path. **4**, 177 (1939). — HALHUBER, M. J.: Wien. Z. inn. Med. **29**, 263 (1948). — HAMPERI, H.: Klin. Wschr. **1954**, 665. — HASHIMOTO, M.: Fukuoka Acta med. **29**, 2450 (1936). — HATERD, H. J. VAN DE: Inaug.-Diss. Düsseldorf 1949. — HECK, F. J., and B. E. HALL: J. Amer. Med. Assoc. **112**, 95 (1939). — HEDINGER: Verh. naturforsch. Ges. Basel **82**, 2 (1917). — HEILMEYER, L.: In Lehrbuch der speziellen pathologischen Physiologie, 9. Aufl. Stuttgart 1955. — HELLY, C.: In Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie, Bd. I/2, S. 1015. Berlin 1927. — HERRATH, E. v.: Verh. dtsch. Ges. Path. **1953**, 13. — HERZOG, G.: (a) Beitr. path. Anat. **61**, 325 (1916). — (b) Zbl. Path. **31**, 481 (1921). — HERZENBERG, H.: (a) Beitr. path. Anat. **73**, 55 (1924). — HETENYI, G.: Schweiz. med. Wschr. **1950**, 979. — HITTMAIR, A.: Klin. Wschr. **1944**, 71. — HODGSON, G., and J. TOHA: Blood **9**, 299 (1954). — HUECK, W.: Beitr. path. Anat. **66**, 330 (1920). — ISAAC, S., u. K. MÖCKEL: Z. klin. Med. **72**, 231 (1911). — ISAACS, R.: Fol. haemat. (Lpz.) **40**, 395 (1930). — ITAMI: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **60**, 75 (1909). — JAFFÉ, R., H.: Beitr. path. Anat. **68**, 224 (1921). — KNOLL, W.: Die embryonale Blutbildung beim Menschen. St. Gallen 1950. — KOBERT: Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904. — KOPAC Z.: Virchows Arch. **310**, 660 (1943). — KUCZINSKI, M. H.: Virchows Arch. **234**, 300 (1921). — LANG, F. J.: (a) Z. mikrosk.-anat. Forsch. **4**, 417 (1926). — (b) Handbook of hematology, Bd. III, S. 2105. New York 1938. — LEVINSON, S. A., and L. R. LIMARZI: Amer. J. Clin. Path. **17**, 449 (1947). — LIVADAS, K.: Fol. haemat. (Lpz.) **49**, 388 (1933). — MALYSCHEW, B.: Beitr. path. Anat. **78**, 1 (1927). — MARCHAND, F.: Verh. dtsch. Ges. Path. **1913**, 5. — MATOUSEK, J., u. A. KRONDL: Beitr. path. Anat. **106**, 331 (1942). — MAXIMOW, A.: In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. II/1. Berlin 1927. — MEESSEN, H.: Beitr. path. Anat. **109**, 352 (1944). — MEYER, E.: Frankf. Z. Path. **12**, 266 (1913). —

MEYER, E., u. A. HEINEKE: Dtsch. Arch. klin. Med. **58**, 319 (1908). — MEYER, L. M., and A. SAWITSKY: Amer. J. Path. **24**, 835 (1948). — MILLER, F. R., and D. L. TURNER: Acta haematol. (Basel) **2**, 78 (1949). — MÖLLENDORFF, W., u. M. v.: Zellforsch. **3**, 502 (1926). — MOESCHLIN, S., u. K. ROHR: Erg. inn. Med. **57**, 723 (1939). — MÜLLER, A. H.: Klin. Wschr. **1950**, 358. — MUHLETHALER, J. P.: Acta anat. (Basel) **15**, 289 (1952). — NAEGELI, O.: Blutkrankheiten. Berlin 1931. — OBERLING, C.: Bull. Assoc. franç. Étude Canc. **17**, 234 (1929). — OGATAV, S.: Beitr. path. Anat. **53**, 120 (1912). — OMURA, K., and B. OSOGUE: Anat. Rec. **110**, 289 (1951). — OSGOOD, E., and M. L. KRIPPAEHN: Acta haematol. (Basel) **13**, 153 (1955). — OSOGUE, B.: Anat. Rec. **107**, 193 (1950). — OSOGUE, B., and K. OMURA: Anat. Rec. **108**, 663 (1950). — PAPPENHEIM, A.: Fol. haemat. (Lpz.) **22**, 1 (1917). — PATRASSI, G.: Virchows Arch. **321**, 572 (1952). — PENTIMALLI, F.: (a) Virchows Arch. **275**, 192 (1929). — (b) Verh. dtsh. Ges. Path. **1953**, 221. — REISSMANN, N. R.: Blood **5**, 165 (1950). — RÖSSLE, R.: Verh. dtsh. Ges. Path. **1944**, 1. — ROHR, K.: Blood **4**, 130 (1949). — ROSENOW, G.: Acta haematol. (Basel) **5**, 1 (1951). — ROTHLIN, E., u. E. UNDRITZ: Arch. Vererbungsforsch. **21**, 283 (1946). — ROUSSY, G., M. et P. GUÉRIN: Bull. Assoc. franç. Étude Canc. **30**, 29 (1942). — RUHENSTROTH-BAUER, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **211**, 32 (1950). — SABIN, F. R.: Contrib. to Embryol. **9**, 215 (1920). — SCHENK, P.: Dtsch. med. Wschr. **1923**, 1513. — SCHERMER, S.: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. Leipzig 1954. — SCHILLER, W.: Amer. J. Path. **19**, 809 (1943). — SCHILLING, V.: Forschgn u. Fortschr. **1949**, 303. — SCHULTEN, H.: Lehrbuch der klinischen Haematologie, 5. Aufl. Stuttgart 1953. — SCHUMACHER, S. v.: Arch. mikrosk. Anat. **81** (1912). — SCHWARZ, E.: Amer. J. Clin. Path. **24**, 629 (1954). — SEEMANN, G., u. A. KRASNOPOLSKI: Virchows Arch. **262**, 697 (1926). — SELYE, H., and H. STONE: Amer. J. Path. **26**, 211 (1950). — SIEGMUND, H.: Verh. dtsh. Ges. Path. **1923**, 114. — SILBERBERG, M.: Virchows Arch. **267**, 483 (1928). — SKORNJAKOFF, A.: Dtsch. Arch. klin. Med. **101**, 251 (1911). — SONNENFELD, A.: Z. klin. Med. **111**, 108 (1929). — SSSYSOJEW, T.: (a) Virchows Arch. **250**, 15 (1924). — (b) Virchows Arch. **259**, 291 (1926). — STERNBERG, C.: Beitr. path. Anat. **46**, 586 (1909). — TEI: J. Chosen Med. Assoc. **28**, 156 (1938). — TRANSBØL, K.: De allergiske Blodsygdomme. Kolding 1942. — UHER, V.: Fol. haemat. (Lpz.) **61**, 24 (1939). — WASSERMANN, F.: Sitzgsber. Ges. Morph. u. Physiol. Münch. **42**, 43 (1933). — WERZBERG, A.: Virchows Arch. **204**, 272 (1911). — WYATT, J. P., and S. C. SOMMERS: Blood **5**, 329 (1950). — ZIEGLER, K.: Dtsch. Arch. klin. Med. **99**, 431 (1910).

Prof. Dr. O. FRESSEN, Düsseldorf, Patholog. Inst. d. Med. Akademie