

Aus dem Pathologischen Institut der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. med. W. ROTTNER)

Über den Einfluß der chronischen Minderdurchblutung umschriebener Körperabschnitte auf die Blutbildung

Von

K. HÜBNER und H. ZIMMERMANN

Mit 4 Textabbildungen in 11 Einzeldarstellungen

(Eingegangen am 9. April 1960)

Die besondere Bedeutung des Sauerstoffmangels als Reiz auf die Blutbildung hat seit langem allgemeine Anerkennung gefunden. Erfahrungsgemäß entwickelt sich unter einer hypoxämischen Hypoxydose (Höhenexposition, Morbus coeruleus u. a.) eine symptomatische Polyglobulie (BARCROFT, BING u. Mitarb., HEILMEYER u. BEGEMANN u. a.), der eine allgemeine Knochenmarkshyperplasie zugrunde liegt [(HEILMEYER u. BEGEMANN, SAATHOFF (1, 2)].

Eigene Untersuchungen „über den Einfluß der temporären Ischämie auf die Blutbildung“ hatten ergeben, daß die vorübergehende Unterbrechung der Blutströmung in umschriebenen Körperabschnitten beim Kaninchen zwar ebenfalls eine allgemeine Hyperplasie des Knochenmarkes hervorruft, daß die Polyglobulie jedoch ausbleibt. Vielmehr entwickelt sich eine Anämie, die in ihrem Ausmaß eine direkte Abhängigkeit von der Dauer der Durchblutungsbehinderung erkennen läßt. Sie wurde mit einer Sauerstoffmangelschädigung des temporär ischämischen Knochenmarkes erklärt.

In der vorliegenden Arbeit erzeugten wir an Stelle der kurzfristigen, vorübergehenden, vollständigen Drosselung der Durchblutung (temporäre Ischämie) eine anhaltende Minderdurchblutung der unteren Körperhälfte, indem wir die Lichtung der unteren Bauchaorta durch eine Klemme stark einengten. Dieses Experiment sollte klären, wie sich eine derart anhaltende Mangeldurchblutung der unteren Körperhälfte auf das Knochenmark auswirkt und ob sie — wie die allgemeine Hypoxämie — eine Polyglobulie oder aber — wie die temporäre Ischämie einer Körperhälfte — eine Anämie erzeugt. Das letztere ist, wie wir zeigen werden, der Fall, obwohl das Knochenmark der oberen, der Mangeldurchblutung nicht ausgesetzten Körperhälfte stark aktiviert wird (Hyperplasie). Die Anämie entsteht, weil die anhaltende, starke Mangeldurchblutung eine so starke Insuffizienz der Hämopoese in der unteren Körperhälfte verursacht, daß die letztere vom hyperplastischen Knochenmark der oberen Körperhälfte nicht kompensiert zu werden vermag.

Methodik

Es wurden 16 ausgewachsene Kaninchen beiderlei Geschlechts und verschiedener Rassen verwandt, Gewicht der Tiere etwa 3,5 kg. Acht Tiere wurden zur systematischen Auswertung nicht herangezogen, da sie die von uns vorgesehene Überlebenszeit von 3 Monaten nicht erreichten. Diese Tiere verendeten spontan innerhalb der ersten Versuchswöche zumeist unter den Zeichen eines schweren Kreislaufkollapses. Bei den 8 Versuchstieren wurden zu Beginn des „Goldblatt-Experimentes“ Erythrocyten, Hämoglobingehalt (Hb), Hämatokrit,

Leukocyten, Reticulocyten des peripheren Blutes und Knochenmarkes sowie das durch Punktions gewonnene Knochenmark des rechten Femur (Methoden s. bei HÜBNER u. ZIMMERMANN, SCHLAGETTER u. ZIMMERMANN) untersucht. Diese Werte wurden jeweils bei den einzelnen Tieren als normale Ausgangswerte angesehen.

Danach Laparotomie in Urethannarkose (0,5 g Urethan/kg Körpergewicht in 25%iger Lösung subcutan injiziert). Nach Freilegung der unteren Bauchaorta wurde etwa 5—15 mm oberhalb ihrer Teilungsstelle eine aus V₂A-Stahl besonders konstruierte Klemme¹ angebracht (s. Abb. 1). Die Klemme ist im grundsätzlichen der von GOLDBLATT bei seinen Nierenexperimenten verwendeten ähnlich: Ein Metallbügel, in dessen Bogen ein Schraubgewinde mit sehr engem Gewindegang eingefräst ist, hat an seinen Enden zwei eingelassene Führungsnuuten, in die eine Bodenplatte eingeschoben werden kann. Eine Schraubspindel, die durch das oben erwähnte Gewinde geführt wird, hat an ihrem unteren Ende eine festanmontierte Platte. Durch Drehen der Spindel kann die Platte wie ein Stempel nach unten hin zur Bodenplatte bewegt werden.

Der Klemmbügel wird über die unterhalb der freigelegten Aorta angebrachte Bodenplatte geschoben, so daß die Aorta zwischen Stempel und Bodenplatte liegt. Dann wird die Schraubspindel ganz herunter gedreht, bis die Aorta vollständig komprimiert wird (Pulslosigkeit distal der Klemme). Danach ganz geringe Öffnung durch Rückwärtsdrehung. Fixierung der Klemme *in situ* durch Seidennähte. Verschluß der Bauchwunde. Steriles Operieren. Keine Wundinfektionen.

Nach 2, 4, 7, 9, 11, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 und 84 Tagen wurden die peripheren Blutwerte, daneben nach 7, 14, 28, 56 und 84 Tagen das Knochenmark untersucht. Die Knochenmarkspunktionen erfolgten gleichzeitig stets in der oberen nicht ischämisch geschädigten und in der unteren vermindert durchbluteten Körperhälfte. Folgende Punktionsstellen: beide distale Femurepiphysen, beide Tibiaköpfe, beide Humerusköpfe, beide distale Humerusenden.

Abb. 1. Modifizierte „Goldblatt“-Klemme, etwa 1:10 vergrößert. Genaue Erläuterung der Einzelteile s. Text

Erythrocyten und Leukocyten wurden in der Bürker-Kammer gezählt. Hb-Bestimmung nach SAHLI (Doppelbestimmungen). Hämatokrit nach VAN ALLEN. Reticulocytenzählung qualitativ und quantitativ nach HEILMEYER. Peripherie Blutausstriche wurden nach PAPPENHEIM gefärbt, ebenso die Knochenmarkssausstriche. Ferner wurden die durch Punktions gewonnenen Knochenmarksbröckel in Susa fixiert, in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin und nach GIESMA gefärbt.

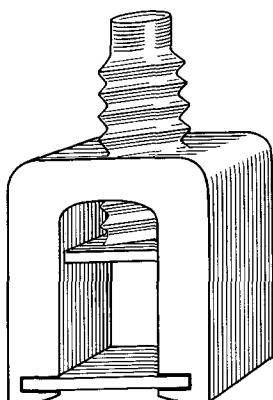
Vor und während der gesamten Versuchszeit wurde das Gewicht der Tiere laufend registriert.

Ergebnisse

Klinische Beobachtungen. Unmittelbar nach der Operation, d.h. bereits am nächsten Tag, setzte bei allen Tieren eine deutliche Gewichtsabnahme ein, die im allgemeinen nach 8—11 Tagen post operationem am stärksten war. Der Gewichtsverlust betrug während dieser Zeit im Durchschnitt etwa 400 g. Nach ungefähr 4—8 Wochen hatten bis auf 2 Tiere alle ihr Ausgangsgewicht wieder erreicht und nahmen teilweise sogar bis zum Versuchsende bis zu 200 g im Vergleich zum Ausgangswert an Gewicht zu.

In den ersten 2—3 postoperativen Tagen wirkten die Tiere allgemein krank, das Fell war struppig, wenig Nahrungsaufnahme. Dabei traten bei 4 Tieren am 1. Tag passagere Paresen der hinteren Extremitäten auf, die aber nach 2—3 Tagen wieder beseitigt waren. Etwa von Beginn der 2. Versuchswoche an waren die Tiere bis zum Ende des Experimentes wohlaufl.

¹ Hersteller: Firma W. Vogel, Gießen, Marburger Str. 81.



Bei 5 Tieren wurde innerhalb der ersten Woche der Urin untersucht. Die Tiere befanden sich während dieser Zeit im Stoffwechselkäfig. Wir beobachteten am ersten postoperativen Tag eine deutliche Oligurie, die am 3.—4. Tag wieder ausgeglichen war. Ferner bestand am 1. und 2. Tag eine Glykosurie; dementsprechend Anstieg des spezifischen Gewichtes. Ebenfalls kurzfristige pH-Verschiebung nach der sauren Seite innerhalb der ersten beiden Tage. Urinsediment praktisch unverändert; lediglich vereinzelte Erythrocyten und ganz vereinzelt hyaline und granulierte Zylinder. Keine Eiweißausscheidung.

Von den 8 Tieren, die die Überlebenszeit von 3 Monaten nicht erreichten, verendeten 4 mit ausgeprägten spastischen Lähmungen der hinteren Extremitäten; die anderen 4 Tiere boten lediglich die Zeichen des Kreislaufkollapses. In 2 Fällen konnte eine sog. Crush-Niere nachgewiesen werden.

Histologische Befunde. Wie wir schon in früheren Untersuchungen gezeigt haben, verhält sich im normalen Knochenmark des Kaninchens das Fettmark zum Zellmark wie etwa 3:1. Die Verschiebung dieser Relation unter Durchblutungsdrosselung in der unteren Körperhälfte bzw. in den Markregionen außerhalb der Hypoxie ist in Abb. 2 graphisch sowie in Abb. 3 im histologischen Bild dargestellt. Das Verhältnis Fettmark zu Zellmark wurde jeweils geschätzt; die aufgeföhrten Werte stellen den Durchschnitt der 8 Versuche dar.

Das Knochenmark zeigt bei allen Tieren ein charakteristisches Verhalten.

Es entwickelt sich in der oberen Körperhälfte nach Einbau der Aortenklemme bereits innerhalb einer Woche eine deutliche Markhyperplasie (Abb. 3b, Abb. 2), die bis zu 4 Wochen an Intensität zunimmt (Abb. 3d, Abb. 2). Danach bildet sie sich trotz anhaltender Durchblutungsdrosselung langsam wieder zurück und erreicht nach 3 Monaten etwa den Ausgangswert (Abb. 3f, Abb. 2).

In der unteren Körperhälfte, die der Mangeldurchblutung ausgesetzt war, findet sich dagegen nur eine geringe Vermehrung des Zellmarkanteiles, ohne daß jemals das Zellmark den Fettmarkanteil übertrifft (Abb. 2, vgl. Abb. 3a, c, e, g). Nach 12 Wochen ist das normale Verhältnis Fettmark : Zellmark wieder hergestellt.

Die Untersuchung von Leber, Milz, Lymphknoten und Nieren nach Tötung der Tiere am 84. postoperativen Tag ergab keinen Anhalt für eine extramedulläre Blutbildung. Auffällig war an der Milz eine Zunahme von Makrophagen, die neben Hämosiderin auch Zelltrümmer enthielten. Vereinzelt waren diese auch in der Leber nachweisbar. Eine Marksclerose oder -fibrose fand sich weder in der oberen noch in der unteren Körperhälfte.

Cytologische Knochenmark- und periphere Blutbefunde. Zur cytologischen Untersuchung des Knochenmarkes wurden Markausstriche angefertigt; die

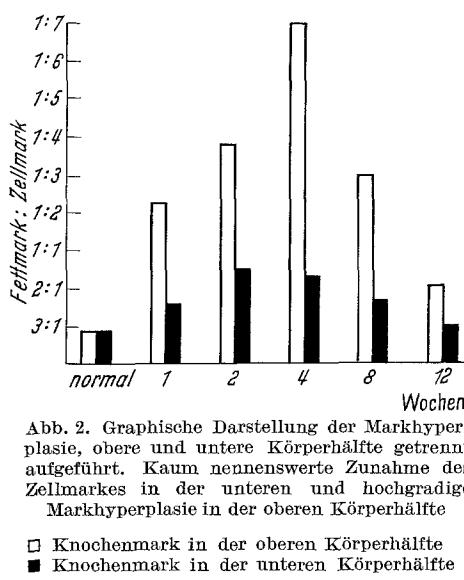


Abb. 2. Graphische Darstellung der Markhyperplasie, obere und untere Körperhälfte getrennt aufgeführt. Kaum nennenswerte Zunahme des Zellmarkes in der unteren und hochgradige Markhyperplasie in der oberen Körperhälfte

□ Knochenmark in der oberen Körperhälfte
■ Knochenmark in der unteren Körperhälfte

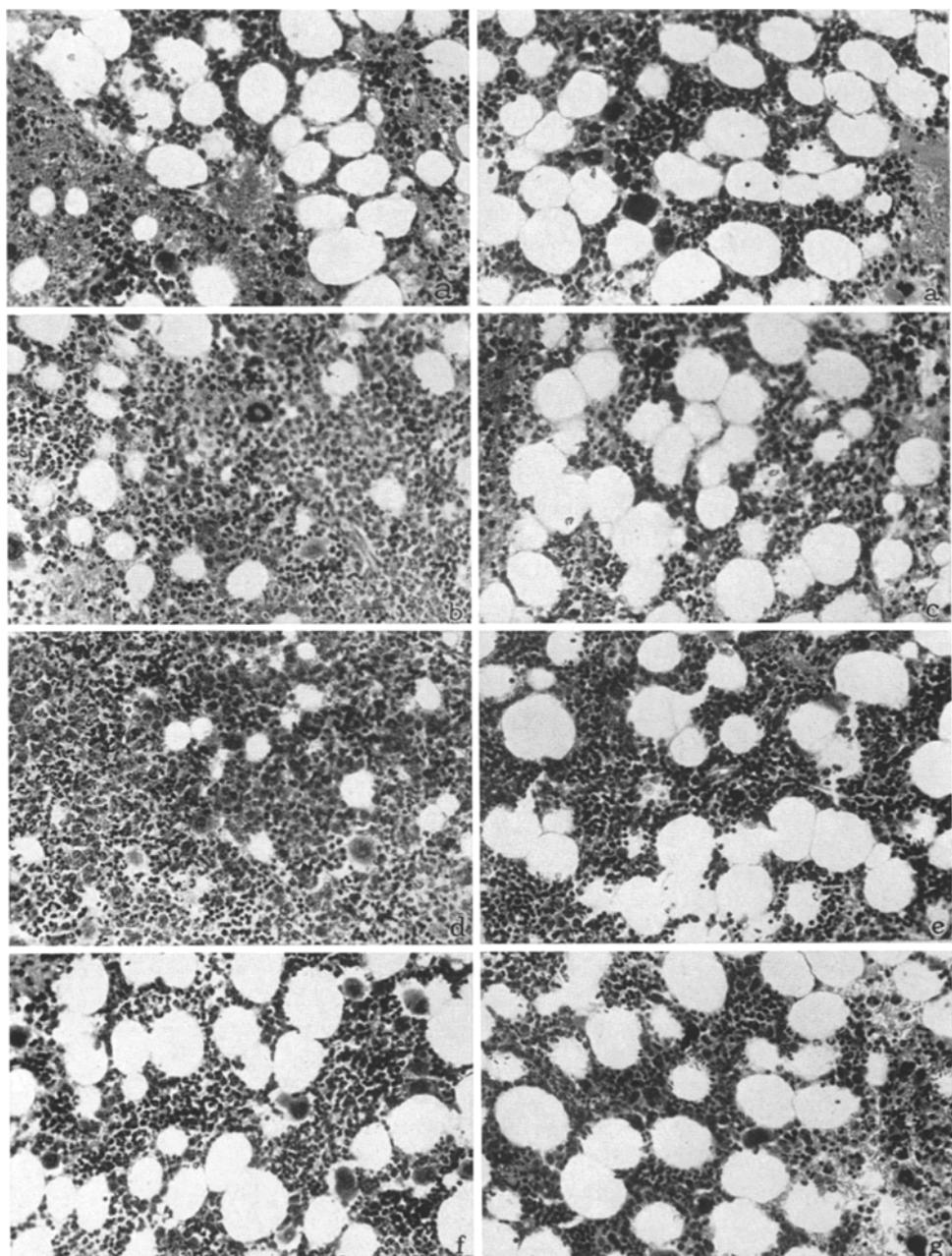


Abb. 3a—g. Histologische Knochenmarkpräparate eines Kaninchens vor und während der Mangel-durchblutungsversuche. a normal (vor Versuchsbeginn); b obere Extremität 1 Woche; c untere Extremität 1 Woche; d obere Extremität 4 Wochen; e untere Extremität 4 Wochen; f obere Extremität 12 Wochen; g untere Extremität 12 Wochen nach Einbau der Aortenklemme. Hämatoxilin-Eosin Vergr. 200mal

quantitative Auswertung erfolgte mit Hilfe des Hämomyelogramms nach H. E. BOCK (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Goldblatt-Versuche am Knochenmark*
Hämomyelogramm (gekürzt) nach H. E. BOCK.

Knochenmarkzellen	Normal	Dauer der Durchblutungsdrosselung									
		1 Woche		2 Wochen		4 Wochen		8 Wochen		12 Wochen	
		oben	unten	oben	unten	oben	unten	oben	unten	oben	unten
6 Proerythro. . . .	0,6	2,5	0,5	1,9	1,6	1,3	0,6	1,5	0,6	1,1	0,7
5 jug. . . .	1,0	2,7	0,7	2,8	1,4	2,5	0,9	1,4	1,0	1,2	0,9
4 Erythro. . . .	2,7	5,6	2,3	8,2	3,5	5,2	2,4	4,4	2,0	4,1	2,2
3 alt. . . .	1,2	0,2	1,3	0,6	1,5	0,1	0,5	0,8	0,8	0,6	0,8
2 jug. . . .	19,8	42,7	18,1	44,0	22,7	36,8	18,5	30,9	18,7	28,3	15,3
1 Normo. . . .	25,5	20,4	23,3	30,5	36,2	23,5	26,2	17,7	18,4	22,6	21,3
1/2 alt. . . .	1,1	0,7	1,9	0,4	2,1	1,0	2,3	0,6	1,3	0,4	1,1
6 Myelobl. . . .	1,2	1,6	1,8	1,9	1,3	2,5	1,5	1,6	1,5	1,7	1,2
5 Promyelo. . . .	2,7	3,6	3,0	2,8	1,5	4,2	1,9	3,3	1,6	3,1	1,8
4 Myelocyt. . . .	8,2	12,0	7,8	12,3	8,5	11,9	7,8	11,3	7,6	11,0	8,0
3 Jgdl.	14,7	19,8	13,8	18,7	15,5	16,4	14,9	19,1	13,8	20,2	15,5
2 Stab.	30,7	27,2	30,5	24,9	28,2	30,0	31,9	29,3	30,4	28,2	27,5
1 Segm.	20,4	14,2	19,5	14,0	19,5	14,1	22,4	13,9	22,1	14,3	20,5
2 Monocyt. . . .	0,3	0,1	0,1	—	—	—	—	0,1	—	—	—
6 blast. . . .	0,4	1,1	1,4	1,9	1,3	1,6	1,3	1,4	1,7	0,9	1,4
2 gew. Ly.. . .	6,0	8,1	9,5	9,8	9,9	7,9	7,9	6,1	6,7	6,8	7,4
1 Phagen. . . .	0,8	1,2	1,0	1,2	0,4	0,9	0,5	0,2	1,1	0,5	0,5
1 Plasma	1,4	2,5	3,0	4,1	3,8	2,3	2,4	2,9	4,1	2,8	2,6
1 Endothelzelle . .	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,4	0,1	0,2	0,3	—	0,2
Lympho.	12,8	8,3	8,1	8,3	9,5	7,5	7,4	10,4	8,8	10,2	13,1
Megakaryocyt. . . .	0,3	0,2	0,3	—	0,1	0,3	—	0,2	0,3	0,3	0,3

Erythro- und Granulopoese zeigten im grundsätzlichen sowohl in der oberen als auch in der unteren Körperhälfte ein gleichartiges Verhalten. Die Erythropoese wies allerdings insofern eine stärkere Reaktion auf als, ihr prozentualer Markanteil in der oberen Körperhälfte vorübergehend eine Zunahme erfuhr (Tabelle 1).

Tabelle 2

	Normal		Dauer der Durchblutungsdrosselung					
			1 Woche	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	
Erythropoetische Reifungszahl	201	oben unten	266 197	258 198	254 202	251 206	238 198	
Granulopoetische Reifungszahl	228	oben unten	258 238	259 229	259 223	254 218	250 225	
Zahl der erythropoetischen Zellen auf 100 granulopoetischen Zellen	52	oben unten	75 48	88 69	71 52	57 43	58 43	
Erythropoetische Mitosen in %/oo	20,2	oben unten	33,2 22,3	33,0 20,6	32,5 19,7	33,9 20,4	32,8 20,5	
Hämoglobingehalt in g-%	11,9		10,4	9,9	10,4	10,4	10,1	
Erythrocytenzahl in Millionen	4,67		4,32	4,25	4,43	4,54	4,50	

Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Markbeschaffenheit besteht aber zwischen der oberen Körperhälfte (oben) und der unteren (unten). So weisen Erythro- und Granulopoese oben während der gesamten Beobachtungszeit eine

ausgeprägte Linksverschiebung auf (Tabelle 1 und 2); unten dagegen findet sich immer eine normale Reifungszahl, d.h. eine Linksverschiebung bleibt hier aus.

Die erythropoetische Mitoserate, bestimmt aus der Anzahl erythropoetischer Zellen auf jeweils 100 Mitosen, weist während der gesamten Versuchsdauer oben eine erhebliche Zunahme von etwa 60% vom Ausgangswert auf. Diese Steigerung bleibt unten aus (Tabelle 2). Damit ergibt sich eine völlige Übereinstimmung mit dem eben erwähnten Befund der Linksverschiebung bzw. Reifungszahländerung¹.

Die Reticulumzellen des Knochenmarkes weisen weder in der oberen noch in der unteren Körperhälfte charakteristische Veränderungen auf. Es findet sich lediglich eine kurzfristige, bis maximal 4 Wochen anhaltende Vermehrung der lymphoiden Reticulumzellen und der Plasmazellen, oben wie unten. Dieser geringfügige Befund ließ sich statistisch nicht sichern.

Während die zahlenmäßige Zusammensetzung des Knochenmarkes in der Beobachtungszeit oben starke Veränderungen aufwies, unten dagegen fast unbeeinflußt blieb, fanden sich qualitative Veränderungen der Einzelzelle fast ausschließlich im Knochenmark der unteren Körperhälfte. Hier zeigten die Zellen der *Erythropoese* Kerndeformierungen vorwiegend der Erythroblasten, seltener der Proerythroblasten und jungen Normoblasten; ferner Kernreifungsstörungen, Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Cytoplasma, Makro-

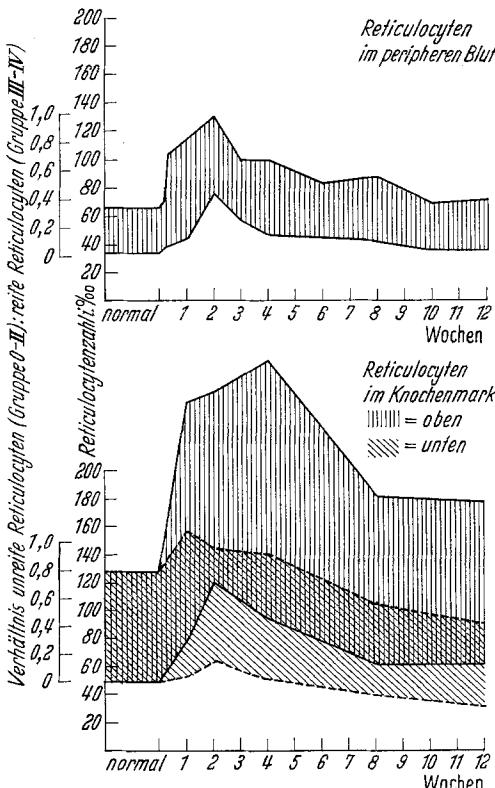


Abb. 4. Graphische Darstellung der Reticulocytenzahl und -linksverschiebung im peripheren Blut (obere Bildhälfte) und im Knochenmark (untere Bildhälfte). Jeweils die basale Linie der 3 Kurven stellt die absolute Zahl der Reticulocyten dar. Die Breite des schraffierten bzw. punktierten Feldes gibt das Verhältnis der reifen zu den unreifen Reticulocyten wieder. Eine Verlängerung des schraffierten oder punktierten Feldes nach oben bedeutet also eine Linksverschiebung. (Weitere Erläuterung im Text.) Bedeutungsvoll ist der krasse Unterschied zwischen der Reticulocytenzahl und -linksverschiebung der oberen und unteren Körperhälfte

zellen, Anisocytose und einzelne pathologische Granulopoese waren die Veränderungen ausgeprägter als an denen der Erythropoese. Neben Kerndeformierungen, Chromatinauflockerungen und Plasmadegeneration in Form von Vacuolierungen und herdförmigem Granulaschwund wurden vermehrt Plasmabasophilie, Vergrößerung der Granulationen sowie die Ausbildung von Riesenformen beobachtet. Die Veränderungen waren an Erythro- und Granulopoese bereits eine Woche nach Einbau der Aortenklemme deutlich, nahmen aber

¹ Bestimmung der Reifungszahl s. Bock.

innerhalb der ersten 4 Wochen noch zu und waren nach 8—12 Wochen noch nachweisbar.

In der oberen Körperhälfte waren die qualitativen Veränderungen an Erythro- und Granulopoese geringfügig. Zelldegenerationen konnten nicht beobachtet werden. Lediglich Makroformen, geringe Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Cytoplasma sowie Kernauflockerungen waren nachweisbar. Auch hier waren die Befunde in den ersten 4 Wochen am ausgeprägtesten, waren aber bei Tötung des Versuchstieres nicht mehr nachweisbar.

Im peripheren Blut fand sich bereits 2 Tage nach der Operation ein Abfall der Hämoglobinwerte und der Erythrocytenzahlen, die nach etwa 14 Tagen Versuchsdauer die tiefsten Werte zeigten (Tabelle 2). In der Folgezeit praktisch gleichbleibend niedrige Hb-Werte bis zum Versuchsende und langsames Ansteigen der Erythrocytenzahlen, ohne daß jedoch die Ausgangswerte erreicht wurden. Die Leukocyten zeigten ein uncharakteristisches Verhalten. Geringe, während der Beobachtungszeit nachgewiesene Zunahme der Leukocytenzahlen übertrafen nicht die auch normalerweise zu beobachtenden Schwankungen der Leukocytenzahlen. Die Untersuchung der Hämatokritwerte ergab keine eindeutigen Ergebnisse. Zwar zeigte sich innerhalb der ersten 10 Tage ein Abfall, jedoch ließen sich die Ergebnisse statistisch nicht sichern. Mit Bestimmtheit kann aber gesagt werden, daß während der gesamten Versuchsdauer ein Ansteigen der Hämatokritwerte nicht eintrat. Das Erythrocyteneinzelvolumen blieb während der Beobachtungszeit praktisch unbeeinflußt.

Wesentlich eindrucksvoller waren die Befunde an den *Reticulocyten*, die zahlenmäßig und hinsichtlich ihres Reifegrades ausgewertet wurden. Die Ergebnisse der quantitativen und qualitativen Auswertung der Reticulocyten des Knochenmarkes und des peripheren Blutes sind in Abb. 4 graphisch dargestellt.

Im peripheren Blut beobachteten wir nach einer Woche einen Anstieg der Reticulocytenzahl, der nach 2 Wochen sein Maximum erreichte. Die Zunahme betrug über 100% (Abb. 4, obere Hälfte). In der Folgezeit langsamer Abfall der Reticulocytenzahl und Erreichen des Ausgangswertes nach etwa 9 Wochen. Der Reifegrad, gemessen an dem Verhältnis der Reticulocyten der Gruppe I und II zu denen der Gruppe III und IV (nach HEILMEYER), zeigt bereits 3 Tage nach der Operation eine ausgeprägte Veränderung. Es entwickelt sich eine Linksverschiebung (Zunahme der Reticulocyten der Gruppe I und II), die schon nach 7 Tagen ihr Maximum erreicht und sich von da an langsam zurückbildet. Nach 10 Wochen entspricht der Reifegrad dem des Ausgangswertes.

Bei der Untersuchung der Reticulocyten des Knochenmarkes (Abb. 4, untere Hälfte) finden sich ausgeprägte Differenzen zwischen denen der oberen und unteren Körperhälfte. In der oberen Körperhälfte steigt die Reticulocytenzahl im Knochenmark innerhalb der ersten 2 Wochen auf etwa das Dreifache gegenüber des Ausgangswertes an und fällt dann langsam ab, ohne bei Tötung der Tiere nach 12 Wochen die Normalwerte erreicht zu haben. Die Linksverschiebung geht hier zeitlich dem Anstieg der Reticulocytenzahl parallel. Das Maximum wird allerdings erst nach 4 Wochen erreicht. Bei Versuchsende besteht die Linksverschiebung noch immer.

Im Knochenmark der unteren Körperhälfte wird nur ein geringer Reticulocytenanstieg beobachtet, der nur knapp 30% des Ausgangswertes beträgt (oben

dagegen gleichzeitig 200%). Auch hier bereits nach 4 Wochen wieder Rückbildung der Reticulocytenvermehrung. Von 8 Wochen an unterschreiten des normalen Ausgangswertes mit maximaler Erniedrigung der Reticulocytenzahl bei Tötung der Tiere. Zu diesem Zeitpunkt liegt die Reticulocytenzahl des Knochenmarkes der unteren Körperhälfte niedriger als die des peripheren Blutes. Eine Woche nach Versuchsbeginn findet sich auch im Knochenmark der unteren Körperhälfte eine geringe Linksverschiebung der Reticulocyten. Von da an stets Rückbildung der Linksverschiebung. Nach 8—12 Wochen überwiegen die reifen Reticulocyten. Es besteht also dann eine Rechtsverschiebung.

Zusammenfassend zeigt die Untersuchung der Reticulocyten des peripheren Blutes und des Knochenmarkes in der oberen und unteren Körperhälfte zeitlich gesehen einen gleichartigen Reaktionsablauf, indem die quantitativen Veränderungen nach etwa 14 Tagen kumulieren. Die Reaktionsweise ist jedoch in den beiden Knochenmarkregionen verschieden: *oben* ausgeprägter Reticulocytenanstieg und ausgeprägte Linksverschiebung, die auch nach 12 Wochen noch nachweisbar sind; *unten* nur geringer Reticulocytenanstieg und geringe Linksverschiebung, die nach 8 Wochen in eine Rechtsverschiebung mit Absinken der Reticulocytenzahl unter den Ausgangswert übergeht.

Diskussion

Eine durch Stenosierung der unteren Bauchaorta bei Kaninchen erzeugte, anhaltende Mangeldurchblutung der unteren Körperhälfte führt zu ausgeprägten Veränderungen im Knochenmark der proximal und distal von der Stenose gelegenen Körperabschnitte. Diese unterscheiden sich prinzipiell voneinander.

Die *obere* Körperhälfte zeigt eine bis zu 4 Wochen zunehmende, erhebliche Knochenmarkshyperplasie mit Beteiligung aller 3 Zellstränge. Dabei hat die Erythropoese den Vorrang, was wir bereits bei unseren Untersuchungen am Knochenmark nach temporärer Ischämie hatten nachweisen können (HÜBNER u. ZIMMERMANN); der prozentuale Erythropoeseanteil nimmt zu. Daneben fanden wir eine Linksverschiebung der Erythro- und Granulopoese, eine Zunahme der erythropoetischen Mitoserate sowie eine Vermehrung und Linksverschiebung der Reticulocyten. Alle diese Befunde sprechen für eine Aktivierung des Knochenmarkes, und zwar besonders der Erythropoese. Die letztere erreicht etwa 4 Wochen nach Herstellung der Mangeldurchblutung ihr Maximum. Nach 8 und 12 Wochen nähern sich die Befunde in der oberen Körperhälfte wieder zunehmend den Ausgangswerten.

In der *unteren* Körperhälfte bleibt die kranial beobachtete Markaktivierung praktisch aus; keine wesentliche Markhyperplasie, keine Linksverschiebung der Erythro- und Granulopoese, keine Zunahme des prozentualen Erythropoeseanteiles und kein Anstieg der erythropoetischen Mitoserate. Auch die im Knochenmark der oberen Körperhälfte so eindrucksvolle Reticulocytenvermehrung und deren Linksverschiebung fehlt unten fast vollständig. Darüber hinaus lässt sich 8 und 12 Wochen nach Einbau der Aortenklemme eine Verminderung der Reticulocytenzahl unter den Ausgangswert, ja sogar unter die Reticulocytenzahl des peripheren Blutes und eine Rechtsverschiebung der Reticulocyten nachweisen. Zum gleichen Zeitpunkt sinkt auch der prozentuale Erythropoeseanteil unter den Ausgangswert ab. Weiter finden sich im Knochenmark der distalen Körperabschnitte qualitative Zellveränderungen in Form pathologischer Kern- und

Plasmaveränderungen der erythropoetischen und besonders der granulopoetischen, die wiederum oben fehlen.

Im Knochenmark der caudalen Körperabschnitte werden also nicht nur die kranial auftretenden Zeichen der Markaktivierung praktisch vollständig vermißt, es finden sich sogar darüber hinaus Hinweise für eine Markschädigung und eine zunehmende Markinaktivierung.

Die Feststellung, daß bei allen Versuchstieren unter chronischer Mangeldurchblutung der *unteren* Körperhälfte eine Knochenmarkshyperplasie in der *oberen*, von der Hypoxydose nicht betroffenen Körperhälfte auftritt, berechtigte zu der Annahme, daß die Knochenmarkshyperplasie oben in einem ursächlichen Zusammenhang mit der Mangeldurchblutung der unteren Körperhälfte steht. Andere als sauerstoffmangelbedingte Faktoren konnten jedenfalls als Ursache der Hyperplasie durch „Leerversuche“ (Laparotomie ohne Abklemmung der Aorta) ausgeschlossen werden. Daß die chronische Mangeldurchblutung andererseits nicht die unmittelbare Ursache der Markaktivierung sein kann, liegt auf der Hand. Vielmehr muß angenommen werden, daß die Entstehung bzw. Freisetzung sog. Hämopoietine für die Aktivierung des Knochenmarkes verantwortlich zu machen ist (HÜBNER u. ZIMMERMANN, SCHLAGETTER u. ZIMMERMANN).

Über blutbildungsaktive Wirkstoffe sind besonders im letzten Jahrzehnt zahlreiche Arbeiten erschienen, wobei das Augenmerk fast ausschließlich auf die Erythropoese gerichtet war (RUHENSTROTH-BAUER, dort weitere Literatur!). Es ist daher fast nur von Erythropoietinen die Rede. Zweifellos überwiegt auch bei unseren Experimenten die erythropoetische Komponente des Wirkstoffes, jedoch gestatten die Ergebnisse nicht, eine ausschließliche Wirkung auf die Erythropoese anzunehmen. Wir bleiben daher, um nichts vorwegzunehmen, bei der Bezeichnung „Hämopoietin“.

Der chemische Charakter des blutbildenden Faktors ist bisher nicht endgültig geklärt. Eine Diskussion des bisher Bekannten würde den Rahmen unserer Fragestellung überschreiten. Wir verweisen diesbezüglich auf die Arbeit von CLOTTEN u. Mitarb. Auch über den Ort der Hämopoietinbildung besteht in der Literatur keine Einigkeit, wobei die Tatsache, daß die Untersucher sich bei ihren Experimenten fast ausschließlich einer allgemeinen Hypoxydose bedienten, die Lokalisation der Bildungsstätte erschwerte. In letzter Zeit haben JACOBSON u. Mitarb. (1, 2) die Bedeutung der Niere für die Erythropoietinbildung betont. Wenn auch von uns bisher der Gegenbeweis nicht geführt wurde, so kann doch festgestellt werden, daß Erythro- bzw. Hämopoietine auch dann gebildet werden, wenn die Hypoxie nicht die Nieren, sondern nur die distal davon gelegenen Körperabschnitte trifft. Es müßte also, sollte sich die Bedeutung der Nieren für die Wirkstoffbildung bestätigen lassen, ein zusätzlicher neurovegetativer Faktor angenommen werden, der seinerseits durch den Sauerstoffmangel ausgelöst, die Erythro- bzw. Hämopoietinbildung in den Nieren in Gang bringt. Eine neurovegetative Steuerung der Wirkstoffbildung wurde bereits von HETENYI diskutiert. HETENYI lokalisiert die Wirkstoffbildung jedoch in das ischämische Knochenmark, eine Deutung, der wir uns angeschlossen haben.

Obwohl, wie wir weiter unten zeigen können, das „Hämopoietin“ als humoraler Wirkstoff auf das Knochenmark beider Körperhälften einwirkt, bleibt in der unteren Körperhälfte eine Knochenmarkshyperplasie weitgehend aus und fehlen während der gesamten Beobachtungszeit unten die Zeichen der Markaktivierung. Diese Befunde führen wir auf eine anhaltende ischämisch-hypoxidotische Schädigung des Knochenmarkes zurück. Es entwickelt sich also unter der chronischen Mangeldurchblutung der caudalen Körperabschnitte im mangeldurchbluteten Knochenmark ein Dauerschaden, der schließlich, wie die oben beschriebenen Befunde beweisen, zu einer fortschreitenden Inaktivierung des Knochenmarkes führt. Das derart geschädigte Knochenmark ist nicht mehr in der Lage, auf die freigesetzten Hämopoietine mit einer wesentlichen Aktivierung

der Hämopoese (Hyperplasie usw.) zu antworten, vielmehr bleibt es praktisch reaktionslos. Lediglich bei Versuchsbeginn, d.h. 1—2 Wochen nach Einbau der Aortenklemmen, findet sich eine leichte Knochenmarksreaktion, erkenntlich an einer geringen Verschiebung des Verhältnisses Fett- zu Zellmark zugunsten des Zellmarkes und an einer geringen Vermehrung der Reticulocyten auch in der unteren Körperhälfte. Diese initiale Reaktion der Hämopoese beweist, daß die Hämopoietine auch am Knochenmark der unteren Körperhälfte angreifen, aber nur kurzfristig wirksam sind — solange nämlich, bis die fortschreitende Markschädigung eine weitere Reaktion verhindert.

Für die Richtigkeit dieser unserer Thesen zeugen unsere Untersuchungen am Knochenmark nach vorübergehender, d.h. temporärer Ischämie (HÜBNER u. ZIMMERMANN)). Unter diesen Versuchsbedingungen bleibt im Knochenmark der temporär ischämisch geschädigten unteren Körperhälfte initial jegliche Reaktion der Hämopoese aus, da der Schaden maximal ist. Dann aber erholt sich das Knochenmark. Es entwickelt sich nun eine weitgehende Knochenmarkshyperplasie, die gegenüber kranial entsprechend der initialen Reaktionslosigkeit allerdings verzögert auftritt. Diese Verzögerung zeigt eine direkte Abhängigkeit von der Dauer der Durchblutungsstörung. Sie wurde als Ausdruck der Sauerstoffmangelschädigung gedeutet.

Unter Berücksichtigung des oben Gesagten wird verständlich, warum im Gegensatz zur temporären Ischämie unter den vorliegenden Versuchsbedingungen in der caudalen Körperhälfte eine Markhyperplasie praktisch während der gesamten Beobachtungszeit ausbleibt. Hier führt die anhaltende Mangeldurchblutung zu einem Dauerschaden, und es fehlen damit die Voraussetzungen für die Erholung des Knochenmarkes. Die Hyperplasie bleibt daher zwangsläufig aus. Unsere Untersuchungen bestätigen damit die Annahme von HURTADO, HUSSON u. OTIS, RATTO u. Mitarb., ROBSCHÉIT-ROBBINS u. WHIPPLE u.a.), daß die Funktion des Knochenmarkes durch exzessiven Sauerstoffmangel geschädigt werden kann.

Während das Knochenmark in den caudalen, der Mangeldurchblutung ausgesetzten Körperabschnitten bis zum Versuchsende eine zunehmende Inaktivierung erfährt, zeigt das Knochenmark in der kranialen Körperhälfte insofern einen diskontinuierlichen Funktionsablauf, als die Markaktivierung und damit die Hyperplasie nur bis 4 Wochen nach Anlegen der experimentellen Aortenstenose zunimmt, dann aber bis zum Versuchsende nach 12 Wochen eine langsame Rückbildung erkennen läßt. Es wäre naheliegend, den Rückgang der Hyperplasie auf ein Nachlassen der Mangeldurchblutung zurückzuführen. Diese wiederum könnte die Folge einer zunehmenden Kollateralenbildung sein. Auf letztere richteten wir bei der Tötung der Tiere unser besonderes Augenmerk, konnten aber weder makroskopisch noch mit Hilfe der Aortographie Kollaterale nachweisen. Gegen die Abnahme einer Mangeldurchblutung spricht weiterhin die Feststellung, daß in der unteren Körperhälfte eine fortschreitende Knochenmarksinaktivierung zu verzeichnen war. Würde die ischämische Hypoxydose tatsächlich in der 2. Versuchshälfte abnehmen, so hätte sich nach dem oben Gesagten in der unteren Körperhälfte eine Normalisierung der Markfunktion, ja sogar eine Markhyperplasie ausbilden müssen. Eine eindeutige Klärung, warum sich die Hyperplasie bzw. Aktivierung des Knochenmarkes oben zurückbildet, ist uns nicht gelungen. Wir möchten aber annehmen, daß es sich um eine Erschöpfung der Hämopoietin-

bildung handelt. Erfolgt die Hämopoietinbildung nämlich, wie wir es annehmen, in dem unzureichend durchbluteten Knochenmark der distalen Körperhälfte, so wäre vorstellbar, daß die anhaltende ischämische Hypoxydose das Mark schließlich so stark schädigte, daß es die Wirkstoffbildung einstellt. Damit fände das Abklingen der Markaktivierung in der kranialen Körperhälfte trotz anhaltender Mangeldurchblutung seine sinnvolle Erklärung. Das Vorliegen einer einfachen Gewöhnung an den Sauerstoffmangel halten wir dagegen für wenig wahrscheinlich.

Über die Polyglobulie bei chronischem Sauerstoffmangel liegt eine Vielzahl von Untersuchungen vor, die auf Grund der jeweils unterschiedlichen Versuchsanordnung erkennen lassen, daß letztlich der Sauerstoffmangel den entscheidenden Reiz auf die Blutbildung abgibt, ganz gleich, ob er durch äußere (Unterdruck u.a.) oder innere (kongenitale Vitien u.a.) Faktoren ausgelöst wird.

Bei unserer Versuchsanordnung, die eine chronisch-ischämische Hypoxydose der distalen Körperhälfte verursacht, hätte nach den vorliegenden Erfahrungen mit der Ausbildung einer Polyglobulie gerechnet werden müssen. Demgegenüber fanden wir im peripheren Blut aller Tiere eine Anämie, die der operative Eingriff allein nicht erzeugt haben kann, da im „Leerversuch“ (Laparotomie und Freilegung der Aorta ohne Abklemmung) die postoperative Anämie bereits nach wenigen Tagen ausgeglichen war. Ferner war am Ende des Versuches der Hämoglobingehalt regelmäßig stärker erniedrigt als die Erythrocytenzahl, so daß der Färbeindex absank, ein Befund, der auch von SCHLOMKA und PLATEN beim chronischen Sauerstoffmangel beobachtet wurde.

Damit ist erwiesen, daß sowohl die kurzfristige temporäre Ischämie als auch die anhaltende starke Minderdurchblutung der unteren Körperhälfte, wie wir sie erzeugten, im Gegensatz zur hypoxämischen Hypoxydose des ganzen Organismus keine Polyglobulie, sondern eine Anämie erzeugt. Ursache der Anämie ist zweifellos die durch den Sauerstoffmangel bedingte Schädigung des Knochenmarkes der distalen Körperhälfte, die von der hyperplastischen Knochenmarksreaktion in der oberen Körperhälfte nicht kompensiert werden kann. Damit ergibt sich aber die Tatsache, daß der Sauerstoffmangel nicht nur, wie es allgemein angenommen wird, den stärksten Reiz auf die Blutbildung abgibt, sondern sie auch erheblich zu schädigen vermag. Ausschlaggebend ist dabei der Grad des Sauerstoffmangels. Die Entwicklung einer Polyglobulie wäre nach unseren Ergebnissen also nur dann zu erwarten, wenn eine Sauerstoffmangelschädigung des Gewebes vermieden würde, d.h. wenn der Sauerstoffmangel hinsichtlich der Gewebeschädigung unterschwellig dosiert würde. In diesem Sinne sprechen auch die Untersuchungen von TALBOTT, der zeigen konnte, daß die Höhenpolyglobulie nur bis zu einer Optimalhöhe zunimmt (s. auch HURTADO u. Mitarb., HUSSON u. Otis).

Die Tatsache, daß das blutbildende Gewebe bei starker Hypoxie bzw. Anoxie eine Schädigung erfährt, die der Entstehung einer Polyglobulie entgegenwirkt, erscheint uns auch im Hinblick auf die Ätiologie der Polycythaemia vera von Wichtigkeit. Unsere Untersuchungen vermögen insofern einen Beitrag zu dieser Frage zu leisten, als sie die „Gefäßtheorie“ an Wahrscheinlichkeit verlieren lassen. REZNIKOFF u. Mitarb. hatten die Polycythaemia auf eine durch Gefäßveränderungen bedingte Anoxie des Knochenmarkes zurückgeführt, eine Deutung, die durch den in letzter Zeit gelungenen Nachweis blutbildungsaktiver Wirkstoffe bei Polycythaemia (CLOTTEN u. CLOTTEN) zweifellos wieder Nahrung bekommen hat. Unsere Untersuchungen zeigen aber, daß eine Anoxämie bzw. partielle Hypoxydose des Knochenmarkes nicht zu einer generalisierten Blutbildungsaktivierung führen muß. Vielmehr stehen sich Aktivierung und Inaktivierung bzw. Schädigung des Knochenmarkes gegenüber, wobei die letztere, wenn sie stark genug ist, die Entstehung der Polyglobulie verhindert. Die

bei der Polycythaemia vera beobachteten Gefäßthrombosen dürften sekundär als Folge der Thrombozytenvermehrung auftreten, die Zunahme der Viscosität unterstützt zweifellos ihre Entstehung. Die bei der Polycythämie in letzter Zeit nachgewiesenen Erythropoietine lassen ätiologische Schlüsse keinesfalls zu. Vielmehr muß auf Grund neuerer Untersuchungen, die bei der Polycythämie einen sekundären Sauerstoffmangel infolge veränderter Sauerstoffbeladung und veränderter Blutströmungsverhältnisse nachgewiesen haben (LILLEHÉR u. Mitarb., MARX, RATTO u. Mitarb., WENSE), angenommen werden, daß die Wirkstoffbildung diesem sekundären Sauerstoffmangel nachgeordnet ist.

Zusammenfassung

Eine anhaltende Mangeldurchblutung der distalen Körperabschnitte nach Drosselung der unteren Bauchaorta erzeugt bei Kaninchen in der oberen, ausreichend durchbluteten Körperhälfte eine ausgeprägte Knochenmarksaktivierung, vorwiegend der Erythropoiese. Sie ist 4 Wochen nach Anlegen der Aortenstenose am stärksten ausgeprägt und wird auf die Einwirkung sog. Hämopoietine zurückgeführt, die unter der chronischen ischämischen Hypoxydose entstehen.

In der von der Durchblutungsdrosselung direkt getroffenen unteren Körperhälfte steht die hypoxidotische Schädigung des blutbildenden Gewebes im Vordergrund. Das Knochenmark verharrt hier praktisch reaktionslos und läßt nach längerem Bestehen der Durchblutungsdrosselung (8—12 Wochen) die Zeichen der zunehmenden Inaktivierung erkennen.

Im peripheren Blut wird die Entwicklung einer symptomatischen Polyglobulie, wie sie bei einer allgemeinen Hypoxydose häufig zu beobachten ist, unter der chronischen Hypoxydose der distalen Körperabschnitte vermißt. Vielmehr findet sich eine Anämie, die erkennen läßt, daß der chronische Sauerstoffmangel nicht nur einen Reiz auf die Blutbildung ausübt, sondern bei entsprechender Dosierung auch eine schwerwiegende Schädigung der Blutbildung zu erzeugen vermag.

Summary

A persistent deficiency in the circulation of blood in the lower part of the body of rabbits was produced by a constriction of the distal aorta. This led to a marked activity of the bone marrow, chiefly an erythropoiesis, in the upper half of the body where the blood flow remained sufficient. This erythropoiesis was most pronounced four weeks after the application of the aortic stricture and was attributed to the effect of the so-called "hemopoietins" which are produced in chronic ischemic hypoxemia.

In the lower part of the body directly effected by the obstruction in blood flow the hypoxic damage to the hemopoietic tissues was most prominent. Here the bone marrow was without reaction. After prolonged aortic constriction and obstruction to the flow of blood (8—12 weeks) changes indicative of continued inactivity could be observed.

In the peripheral blood the development of a detectable erythropoiesis (polyglobul), as it is frequently observed in general hypoxemia, failed to occur under the conditions of chronic hypoxemia of the distal part of the body. On the contrary, there was an anemia which indicated that the chronic deficiency of oxygen could induce not only a stimulation of hematopoiesis but also in sufficient degree it could cause a severe damage of the blood forming tissues.

Literatur

BARCROFT, J.: Presidential address on anoxemia. *Lancet* **1920**, 485.

BING, R. J., J. D. VANDAM, J. C. HANDELSMAN, J. A. CAMPBELL, R. SPENCER and H. E. GRISWOLD: Physiological studies in congenital heart disease. VI. Adoptions to anoxia. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **83**, 439 (1948).

BOCK, H. E.: Das Hämomyelogramm. *Klin. Wschr.* **1939**, 1565.

CLOTTEN, A., u. R. CLOTTEN: Untersuchungen über die erythropoetische Wirkung polycythämischer Seren. *Klin. Wschr.* **1959**, 432.

ERNSTING, J., and R. J. SHEPPARD: Respiratory adaption in congenital heart diseases. *J. Physiol. (Lond.)* **112**, 332 (1951).

GOLDBLATT, H.: The renal origin of hypertension. *Amer. Lect. Ser. No 14*. Springfield, Ill.: Ch. C. Thomas 1948.

GOLDWASSER, E., W. FRIED and L. O. JACOBSON: Studies on erythropoiesis. VIII. The effect of nephrectomy on response to hypoxic anoxia. *J. Lab. clin. Med.* **52**, 375 (1958).

HEILMEYER, L., u. H. BEGEMANN: Handbuch der inneren Medizin, 4. Aufl., Bd. 2. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951. (Ausführliche Literatur!)

HETENYI, G.: Recherches expérimentales sur les fonctions de la moelle osseuse. *Schweiz. med. Wschr.* **80**, 979 (1950).

HÜBNER, K., u. H. ZIMMERMANN: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der temporären Ischaemie auf die Blutbildung. *Acta haemat. (Basel)* **22**, 209 (1959).

HURTADO, A., C. MERINO and E. DELGADO: Influence of anoxemia on the hemopoietic activity. *Arch. intern. Med.* **75**, 284 (1945).

HUSSON, J., and A. B. OTIS: Adaptive value of respiratory adjustments to shunt hypoxia and altitude hypoxia. *J. clin. Invest.* **36**, 270 (1957).

JACOBSON, L. O., E. GOLDWASSER, W. FRIED and L. PLZAK: (1) Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature (Lond.)* **179**, 633 (1957).

JACOBSON, L. O., E. GOLDWASSER, W. FRIED and L. PLZAK: (2) Studies on erythropoiesis. VII. The role of the kidney in the production of erythropoietin. *Trans. Ass. Amer. Physcns* **70**, 305 (1957).

LILLEHEI, J. P., R. L. JOHNSON, N. WU, E. R. HALDEN and B. J. SPROULE: Venous-arterial admixture in the lungs in primary and secondary polycythemia. *Circulation* **17**, 1029 (1958).

MARX, H. H.: Anpassungsvorgänge bei chronischem Sauerstoffmangel. *Habil.-Schr. Marburg a. d. Lahn* 1959.

RATTO, O., W. BRISCOE, J. W. MORTON and J. H. COMROE: Anoxemia secondary to polycythemia and polycythemia secondary to anoxemia. *Amer. J. Med.* **19**, 958 (1955).

REZNICKOFF, P., N. C. FOOT and J. M. BETHEA: Etiologic and pathologic factors in polycythemia vera. *Amer. J. med. Sci.* **189**, 753 (1935).

ROBSCHETT-ROBBINS, F. S., and G. H. WHIPPLE: Hemoglobin production increases with severity of anoxemia. *Amer. J. Physiol.* **134**, 263 (1941).

RUHENSTROTH-BAUER, G.: Regelung der Erythrocytenkonzentration im Blut. In Handbuch der gesamten Hämatologie, Vol. 2/1. München u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1959. (Ausführliche Literatur!)

SAATHOFF, J.: (1) Über die Latenzzeit des Retikulocytenanstieges bei Sauerstoffmangel. *Virchows Arch. path. Anat.* **319**, 116 (1950).

SAATHOFF, J.: (2) Veränderungen am hämatopoetischen System bei Sauerstoffmangel. *Med. Klin.* **45**, 183 (1950).

SCHLAGETTER, K., u. H. ZIMMERMANN: Experimentelle Untersuchungen über Blut- und Knochenmarksveränderungen nach vorübergehender Ischämie der unteren Körperhälfte. *Beitr. path. Anat.* **116**, 574 (1956).

SCHLOMKA, G., u. W. PLATEN: Zum Verhalten des roten Blutbildes bei chronischem O₂-Mangel. *Folia haemat. (Lpz.)* **75**, 576 (1958).

TALBOTT, J. H.: Studies on high altitudes. II. Morphology and oxygen combining capacity of the blood. *Folia haemat. (Lpz.)* **55**, 23 (1936).

WENSE, TH.: Pathophysiologie des Kreislaufes bei unphysiologischem Blutvolumen. *Anaesthetist* **7**, 147 (1958).