

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Heidelberg

Quantitative und qualitative Gitterfaserstudien im Knochenmark*

I. Mitteilung

Normales Knochenmark

Von

KARL LENNERT und KAZUNORI NAGAI

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. September 1962)

Es besteht kein Zweifel darüber, daß das Verhalten der Knochenmarkfasern für die Diagnostik gewisser neoplastischer Erkrankungen bedeutsam ist. Versucht man aber, sich einen Überblick über die bisher in der Literatur niedergelegten Befunde zu verschaffen, so trifft man auf recht verschiedene Angaben und Interpretationen der jeweiligen Ergebnisse. Diese Diskrepanz beruht darauf, daß bisher für die Beurteilung des Fasergehaltes eine exakte und reproduzierbare quantitative Methode nicht zur Verfügung stand, so daß man sich damit begnügen mußte, den Fasergehalt abzuschätzen. Die Fehlermöglichkeiten sind bei dieser subjektiven Betrachtungsweise sehr groß. Um so mehr verwundert es, wie hoch man den jeweiligen Eindruck von der Fasermenge bewertete und welch weitreichende Konsequenzen man daraus zog. So sehen viele Untersucher einen hohen Gitterfasergehalt als Beweis für eine Retikulose an oder schließen aus dem Fehlen von Gitterfasern auf eine nichtreticulocytaire Neubildung.

Diese subjektive und zum Teil recht unkritische Beurteilung der Fasermenge des Knochenmarkes bei verschiedenen Blutkrankheiten hat uns dazu veranlaßt, eine objektive Methode zu entwickeln und mit dieser Methode das Knochenmark bei verschiedenen Krankheitszuständen, vor allem bei Neoplasien, zu untersuchen (LENNERT 1960). Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß man das Faserpräparat nicht durch das Okular betrachtet, sondern das Präparat auf eine Mattscheibe projiziert und hier die Fasern auf durchsichtiges Papier nachzeichnet. Die Länge der so reproduzierten Fasern kann mit einem Kurvenmesser leicht bestimmt werden. Die Summe der ausgemessenen Fasern wird dann für eine gewünschte Flächeneinheit (1 mm^2) umgerechnet.

In der folgenden Untersuchungsreihe sollen die Einzelergebnisse, die bei den verschiedensten Erkrankungen des Knochenmarkes mit dieser Methode erzielt wurden, ausführlich dargestellt werden. Außerdem soll hierbei zu der quantitativen Betrachtung auch die qualitative kommen; d. h. wir versuchen die Faseranordnung und den Typus der Faservermehrung bei den einzelnen Erkrankungen zu ermitteln. Dazu sind die Skizzen, die wir nach dem Mattscheibenbild zur quantitativen Faserbestimmung angefertigt hatten, eine objektive Grundlage. Der Vergleich dieser qualitativen und quantitativen Faserstudien mit dem histologischen Bild bei Hämatoxylin-Eosin- und Azur-Eosin- bzw. Giemsa-Färbung

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

rundet die Betrachtung ab. Außerdem werden die feingeweblichen Veränderungen in anderen Organen und die cytologische Betrachtung von bioptischen Organpunktaten zur weiteren Unterbauung der Diagnosen herangezogen.

Über die Gitterfasern im normalen und pathologisch veränderten Knochenmarksschnitt sind einige umfassende Studien veröffentlicht worden (MASUGI 1926, ORSÓS 1927, HASHIMOTO 1953). In monographischen Darstellungen und Einzelarbeiten ist vielfach auch das Gitterfasergerüst des Markes Gegenstand kurzer Diskussionen (z. B. ALFEJEW 1926; ASKANAZY 1927; MAXIMOW 1927; GOMORI 1937; FRESEN 1945, 1946; ROHER 1960). In unzähligen kasuistischen Mitteilungen wurden Aussagen über Fasergehalt und -anordnung bei den verschiedensten Erkrankungen gemacht. Auch in der Klinik wird neuerdings den Gitterfasern besondere Aufmerksamkeit gewidmet. So haben unter anderen UNDRITZ (1946, 1961), HECKNER u. VOTH (1954), BRÜCHER u. Mitarb. (1956), HASCHEN (1956) die Versilberungsmethode von GOMORI auf den Knochenmarksausstrich mit Erfolg angewandt.

Material und Methodik

Zur Untersuchung kam Lendenwirbelmark von 55 Sektionsfällen. Das Lebensalter der Patienten lag zwischen 17 und 88 Jahren. Fälle mit Erkrankungen des blutbildenden Systems oder mit Knochenmarkmetastasen maligner Geschwülste wurden ausgeschlossen, so daß jeweils ein annähernd normales Knochenmark vorlag.

Aus dünnen Scheiben von Lendenwirbelkörpern wurden etwa 1,5:2,0 cm große Stücke herausgeschnitten, in Formol fixiert und dann nach Entkalkung in Paraffin eingebettet. Von den so gewonnenen Blöcken wurden 5—6 μ dicke Schnitte hergestellt, um an ihnen die Versilberungsmethode nach GOMORI mit stets gleicher Technik durchzuführen. In jedem Falle wurde zusätzlich die Hämatoxylin-Eosin-Färbung angestellt, in manchen Fällen schlossen wir noch die van Gieson- oder Giemsa-Färbung an.

Von diesen 55 Fällen wurden 12 Fälle zur quantitativen Faserbestimmung ausgewählt, während die übrigen Fälle nur subjektiv betrachtet wurden. Die Blickfelder, in denen der Fasergehalt gemessen wurde, betrafen ausschließlich hämatopoietisches Parenchym, also keine Fettzellen oder Spongiosabalkchen. Es wurde darauf geachtet, daß die ausgewerteten Blickfelder keine größeren Gefäße enthielten. Auch die dichten Fasergleiche der tangential getroffenen Flächen von Fettzellen, Capillaren und Sinus wurden nicht mitverwertet. Die braun dargestellten kollaginen Fasern wurden ebenfalls nicht berücksichtigt. Die Messungen beschränkten sich also auf die quer oder längs getroffenen Gitterfasern der Capillar- und Sinuswände und die dazwischen gelegenen Reticulumfasern des Markparenchyms.

In fünf weiteren Fällen, bei denen sog. Lymphfollikel im Knochenmark gefunden worden waren, haben wir den Fasergehalt von insgesamt acht Lymphfollikeln gemessen.

Nach den meisten Literaturangaben (ROMEIS 1948; LILLIE 1954; ELSTER, REICHEL u. RÖTER 1959) scheint für die Versilberung die Fixierung der Gewebsstücke mit Formol oder Alkohol am besten geeignet zu sein. Andererseits ergibt bekanntlich die Fixation der Knochenmarksstücke mit Zenker-Formol nach MAXIMOW für die cyto-histologischen Untersuchungen die günstigsten Resultate. Ohne diese Fixation ist eine genaue Auswertung der cytologischen Einzelheiten in den blutbildenden Organen kaum möglich. Deshalb sind die in den späteren Arbeiten dieser Untersuchungsreihe verwerteten Fälle fast sämtlich in Maximowscher Lösung fixiert. Um auch diese Präparate mit in den Kreis dieser Untersuchungen einzubeziehen zu können, mußte festgestellt werden, ob die Fixierung in Maximowscher Flüssigkeit einen anderen Fasergehalt erwarten läßt als diejenige mit Formol. Zu diesem Zweck bestimmten wir den Fasergehalt in dem Lendenwirbelkörper eines nichthämatologischen Falles bei verschiedener Fixierungsart und -dauer. Eine etwa 3 mm dicke Scheibe wurde in fünf Stückchen geteilt. Eines dieser Stückchen wurde in 10%igem Formalin, die übrigen vier Stückchen in Maximowscher Flüssigkeit fixiert. Je eines dieser vier Stückchen wurde nach 6, 18, 36 und 48 Std aus der Fixierlösung herausgeholt und weiter verarbeitet.

Die Entkalkung unserer Knochenmarkspräparate erfolgte mit 5%iger Salpetersäure. Es wäre denkbar, daß die Entkalkung auf den Gitterfasergehalt einen reduzierten Einfluß hat. Es war daher zu klären, ob die Fasermengen in nichtentkalktem Knochenmark (Femurmark) höher liegen als nach Einwirkung von Entkalkungslösigkeit. Wir führten daher

vergleichende Fasermessungen an Schnitten von verschieden lange entkalkten und nicht-entkalkten Femurmarkpräparaten des gleichen Falles durch. Wir verwendeten dazu einen 7 cm langen Zylinder roten Knochenmarkes aus dem oberen Drittel des Femurs eines nicht-hämatologischen Sektionsfalles. Dieser Markzylinder wurde in acht gleichgroße Stücke geteilt und in Formalin fixiert. Eines dieser Stücke wurde unentkalkt geschnitten. Die übrigen sieben Stücke wurden in 5%ige Salpetersäurelösung gebracht und nach 24 Std, 2, 3, 4, 5, 6 und 7 Tagen herausgenommen und weiter verarbeitet.

Zur Bestimmung des Gitterfasergehaltes stellten wir zunächst mit dem gewöhnlichen Lichtmikroskop den durchschnittlichen Fasergehalt fest. Dann betrachteten wir die Präparate mit dem „Lanameter“ von REICHERT. Dieses stellt ein Mikroskop dar, welches das Bild auf eine Mattscheibe projiziert. Auf dieser Mattscheibe musterten wir dann bei schwacher, später bei stärkerer Vergrößerung jedes Präparat durch und bestimmten die Fasermenge in zehn Blickfeldern jedes Präparates bei Betrachtung mit Öllimmersion (1100fach). Zu diesem Zweck stellten wir das Präparat scharf auf die Gitterfasern ein, veränderten dann die Mikrometerschraube nicht mehr und zeichneten mit Tinte die Fasern eines Blickfeldes auf Cellophanpapier, das wir auf die Mattscheibe gelegt hatten, nach. An Hand dieser Skizzen wurde mit einem Kurvenmesser die Länge der gezeichneten Fasern bestimmt. Unter Berücksichtigung des Vergrößerungsmaßstabes wurde dann errechnet, wieviel Millimeter Fasern im Quadratmillimeter des Präparates enthalten sind.

Ergebnisse

1. Normale Fasermenge und Faseranordnung im formolfixierten Wirbelmark

a) Fasermenge. Die Ergebnisse der Fasermessungen sind in Tabelle 1 dargestellt. Der Mittelwert der Fasermenge der 12 Fälle betrug $43,3 \pm 1,7 \text{ mm/mm}^2$. Der höchste Durchschnittswert pro Fall lag bei $50,0 \text{ mm/mm}^2$, der niedrigste

Tabelle 1. Fasergehalt des normalen formolfixierten Wirbelmarkes. 12 Fälle

Alter Jahre	Grund- krankheit	Faser- menge pro Fall mm/ mm ²	Höchster Wert pro Blickfeld mm/ mm ²	Niedrig- ster Wert pro Blickfeld mm/ mm ²	Alter Jahre	Grund- krankheit	Faser- menge pro Fall mm/ mm ²	Höchster Wert pro Blickfeld mm/ mm ²	Niedrig- ster Wert pro Blickfeld mm/ mm ²
39	Collum-Ca.	45,2	51,5	35,2	66	Rectum-Ca.	32,8	34,8	28,0
47	Diffuse eitrige Peritonitis	41,9	51,5	29,9	67	Uterus-Ca.	46,7	57,6	32,1
					75	Hirntumor	46,4	58,7	28,0
48	Pankreas- kopf-Ca.	46,4	59,7	39,3	78	Herzinfarkt	39,0	49,0	29,2
52	Collum-Ca.	40,9	64,0	32,1	82	Hirn- blutung	47,9	53,8	40,5
53	Magen-Ca.	50,0	63,4	42,2	88	Hirn- blutung	45,2	54,8	32,1
64	Concretio pericardii	37,6	44,5	22,7					
									$M = 43,3 \pm 1,7$

bei $32,8 \text{ mm/mm}^2$. Die Fasermenge des normalen Knochenmarkes schwankt also bei der Untersuchung von je zehn Blickfeldern von Fall zu Fall nur in geringen Grenzen. Dagegen sind zwischen den einzelnen Blickfeldern stärkere Unterschiede festzustellen, wie die Angaben über die höchsten und niedrigsten Werte pro Blickfeld der einzelnen Fälle deutlich machen: Der höchste Wert pro Blickfeld betrug $64,0 \text{ mm/mm}^2$, der niedrigste $22,7 \text{ mm/mm}^2$. Ein erkennbarer

Zusammenhang zwischen Fasergehalt und Grundkrankheit oder Lebensalter war nicht nachweisbar.

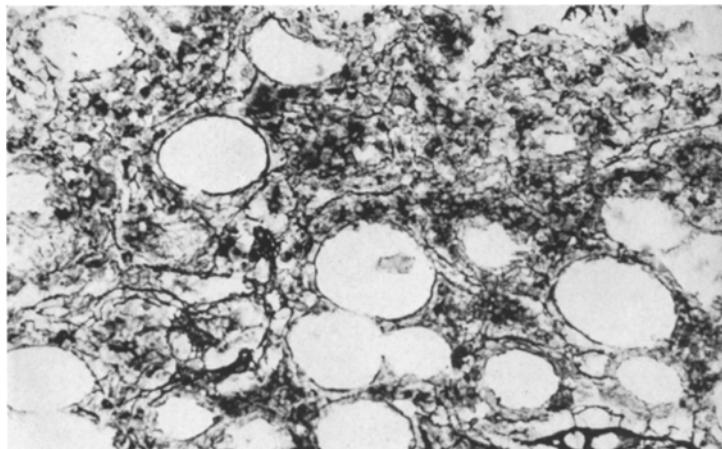


Abb. 1. Das Gitterfaserbild des normalen Knochenmarkes. Lange zirkuläre Fasern um die Fettzellen (sog. Randfasern). Lange Fasern auch im Bereich von Capillaren und Sinus. Dazwischen gelegene Fasern des Markparenchyms kurz und unregelmäßig angeordnet. S 1028/59. Gomori. 224 ×

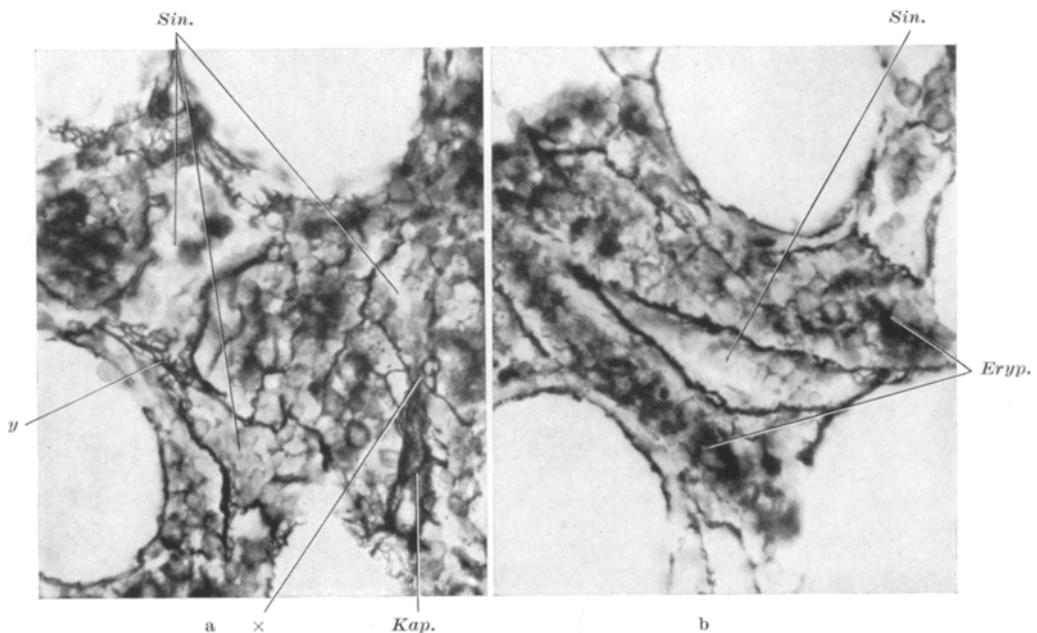


Abb. 2a u. b. Gleiches Knochenmark wie Abb. 1 bei stärkerer Vergrößerung. Die Wände des Sinus (*Sin.*) und Capillaren (*Kap.*) sind gut abgrenzbar. Bei *x* Übergang einer Capillare in einen Sinus, bei *y* Tangentialschnitt von einer Sinuswand. Beachte die dichten feinen Fasergeschlechte. Bei *Eryp.* rote Blutbildungsscherde in der Umgebung einer Sinuswand. Gomori. 560 ×

b) Faseranordnung. Die Faseranordnung ist meist unregelmäßig, manchmal auch angedeutet netzförmig (Abb. 1). Niemals fand sich ein alveolärer Faserbau, wie er bei manchen Knochenmarksneoplasien nachweisbar ist. Die Fasern selbst sind dünn, relativ kurz, oft abgewinkelt oder geschlängelt. Deutliche Ver-

bindungen der einzelnen Gitterfasern untereinander waren nicht nachweisbar. Teilweise schmiegen sich die Fasern den einzelnen Parenchym- bzw. hämatopoetischen Zellen dicht an. Dies gilt besonders für die Reticulumzellen, die in inniger Beziehung zu den Fasern stehen. Bei dichter Zellagerung waren die Fasern kürzer und im allgemeinen schwerer darstellbar, während sie bei zellarmem Parenchym deutlicher erschienen. Die Sinus waren im Faserpräparat besser abgrenzbar als in den Hämatoxylin-Eosin- und Giemsa-Schnitten; denn die Uferzellen der Sinus werden von feinen langen Fasern umspalten, so daß die Sinuswand zumeist scharf hervortritt (Abb. 2). Nur wenn die Sinus in zellreichen Parenchymbezirken liegen, kann die Schärfe der Begrenzung leiden.

Bezüglich der Verteilung der Gitterfasern ist uns aufgefallen, daß einige besondere Bezirke des Knochenmarkes, wie die Umgebung von Arterien, Venen und Spongiosabälkchen oder die Lymphfollikel, mehr Fasern als das eigentliche blutbildende Parenchym enthalten. Besonders die größeren Arterien liegen stets in einem Geflecht von argyrophilen und kollagenen Fasern, die sich in einigen groben Bündeln im Mark verlieren. Die Fettzellen werden von einem korbatigen Geflecht zahlreicher feinster Gitterfasern umspalten. Auf entsprechenden tangentialen Schnittflächen der Fettzellen sind diese Geflechte als fast membranartige Gebilde deutlich zu erkennen.

2. Der Einfluß der Fixation mit der Maximowschen Lösung auf die Darstellbarkeit der Fasern

In Tabelle 2 sind die Werte für die Fasermenge des Knochenmarkes, das mit der Maximowschen Lösung und Formalin vergleichsweise fixiert worden war, angegeben. Aus dieser Tabelle geht deutlich hervor, daß zwischen der Fasermenge des mit Formol

fixierten und der Fasermenge des mit der Maximowschen Lösung 6 Std lang fixierten Knochenmarksstückes kein Unterschied besteht. Die Werte der Knochenmarksstücke, die mit Maximowscher Lösung länger als 6 Std

fixiert wurden, sind zunächst (nach 18 bzw. 36 Std) etwas niedriger, um später wieder etwas anzusteigen. Es ist fraglich, ob diese Unterschiede statistisch signifikant sind. Auf keinen Fall läßt sich eine allmähliche gesetzmäßige Abnahme des Fasergehaltes bei Maximow-Fixierung feststellen. Sollten die gefundenen geringen Differenzen tatsächlich real sein, so dürften sie darauf zurückgehen, daß verschiedene Bezirke innerhalb des Wirbelkörpers untersucht wurden. Denn das Wirbelmark zeigt je nach dem Ort, von dem es entnommen ist, einen etwas unterschiedlichen Fasergehalt: Zentrale Abschnitte des Wirbelkörpers sind etwas faserärmer und zellreicher als periphere (s. unten).

In bezug auf die Faseranordnung fand sich kein Unterschied zwischen den Imprägnationsbildern der mit Formol- und Maximow-Lösung fixierten Stücke. In den Präparaten, welche 36 und 48 Std lang in der Maximow-Lösung fixiert

Tabelle 2. Fasergehalt im Wirbeldruck bei verschiedener Fixierung (nach Messung von je 10 Blickfeldern)

Fixationsmittel	Formol	Maximowsche Lösung			
		6	18	36	48
Fixierungsdauer (Std)	48				
Fasermenge (mm/mm ²)	49,3	49,1	44,3	42,7	48,6

worden waren, stellten sich jedoch die Einzelfasern ungleichmäßiger dar als in den übrigen drei Präparaten. Bei diesen zu lange fixierten Schnitten waren die Gitterfasern teils stark, teils gering imprägniert.

Aus diesen Befunden ist zu schließen, daß die mit der Maximow-Lösung fixierten Knochenmarksstücke auch für die Versilberung verwertbar sind. Es ist aber auf die rechtzeitige Unterbrechung der Fixierung nach 6—12 Std zu achten, um Schädigungen einzelner Fasern durch zu lange Fixierung zu vermeiden.

3. Der Einfluß der Entkalkung auf die Darstellbarkeit der Fasern

Die Werte für die Fasermenge, die je Schnitt in zehn Blickfeldern erzielt wurden, sind in Tabelle 3 dargestellt. Danach besteht zwischen der Fasermenge der verschiedenen lange entkalkten und nicht entkalkten Knochenmarksstücke kein gesetzmäßiger Unterschied. Auch bezüglich der Faseranordnung sowie

Tabelle 3. *Fasergehalt im entkalkten und nicht entkalkten Femurmark*

	Ohne Entkalkung	Dauer der Entkalkung (Tage)						
		1	2	3	4	5	6	7
Fasermenge (mm/mm ²)	61,2	59,0	63,5	64,3	59,0	61,7	62,4	62,0

bezüglich anderer qualitativer Befunde waren zwischen den entkalkten und nicht entkalkten Schnitten keine Differenzen nachzuweisen. Somit hat eine bis zu 7 Tagen dauernde Entkalkung mit Salpetersäure keinen nennenswerten Einfluß auf die Darstellbarkeit der Gitterfasern des Knochenmarkes.

4. Lymphfollikel im normalen Knochenmark

Wir fanden in 20 von 55 Fällen, das ist in 36,3%, innerhalb des Knochenmarkes knötchenförmige Ansammlungen von Lymphocyten, die allgemein als Lymphfollikel bezeichnet werden. Pro Schnitt waren meist 1—3, in einem Fall sogar mehr als zehn Follikel nachweisbar. Keimzentren waren niemals zu sehen. Schon bei der Untersuchung im gewöhnlichen Lichtmikroskop fiel auf, daß die Lymphfollikel offensichtlich mehr Fasern als das umgebende Knochenmarksparenchym enthielten. Daher haben wir den Fasergehalt der Lymphfollikel gesondert untersucht.

a) **Fasermenge der Lymphfollikel.** Die Ergebnisse der quantitativen Faseruntersuchung sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Der Mittelwert des Faser-

Tabelle 4. *Fasergehalt der Lymphfollikel im normalen Knochenmark*

Alter Jahre	Grundkrankheit	Faser- menge pro Fall mm/mm ²	Höchster Wert pro Blickfeld mm/mm ²	Niedrigster Wert pro Blickfeld mm/mm ²
48	Mechanischer Ileus	97,0	123,9	69,0
68	Lungenembolie	86,7	107,7	68,2
75	Hirntumor	116,1	132,9	99,3
78	Hirnerweichung	114,2	134,0	66,6
88	Hirnblutung	84,7	104,7	56,7
<i>M = 99,7 ± 6,7</i>				

gehaltes von 5 Fällen betrug $99,7 \pm 6,7 \text{ mm/mm}^2$ bei einem Höchstwert von $116,1 \text{ mm/mm}^2$ und einem Minimalwert von $84,7 \text{ mm/mm}^2$. Daraus geht hervor, daß der Fasergehalt der Lymphfollikel etwa doppelt so hoch wie der des umgebenden Markparenchyms ist.

b) Faseranordnung in den Lymphfollikeln. Auch die Faseranordnung innerhalb der Follikel unterscheidet sich wesentlich von der des übrigen Knochenmarks-
parenchyms (Abb. 3). Wir fanden hier ein regelmäßig-alveoläres Maschenwerk der
Gitterfasern, das an der Peripherie der Follikel häufig etwas dichter ist. Die Weite

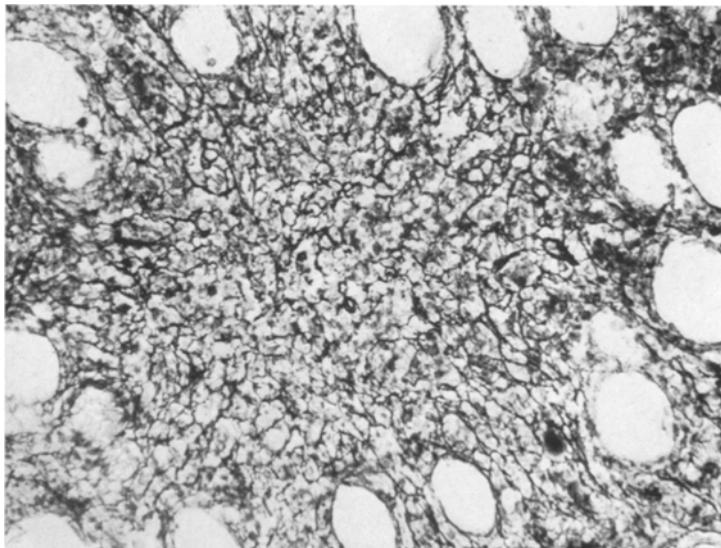


Abb. 3. Lymphfollikel im normalen Knochenmark. Beachte das dichte alveolare Fasergerüst, das in der Peripherie etwas stärker entwickelt ist als im Zentrum. S 393/59. Gomori. $224 \times$

der einzelnen Maschen schwankt mäßig stark. Die Fasern der Follikelperipherie gehen ohne scharfe Begrenzung in die Fasern der Umgebung über. Sie sind vielfach in kleinsten Faserbündeln zusammengefaßt und folgen zum Teil dem Verlauf von radiär gestellten kleinen Gefäßen der Follikelrandzone. Die Capillaren des Follikelinneren lassen sich im Faserpräparat gut darstellen. Auch in sehr kleinen Follikeln ist das regelmäßig-alveolare Faserwerk mit Hilfe der Silberimprägnation nachzuweisen. Bei den üblichen histologischen Färbungen werden solche kleinen Follikel wegen der lockeren Zellanordnung und der unscharfen Begrenzung leicht übersehen.

5. Umschriebene Faservermehrungen im „normalen“ Knochenmark

Bei 9 von 55 untersuchten Fällen von „normalem“ Knochenmark sahen wir umschriebene Faservermehrungen. Acht dieser Fälle zeigten verschieden dichte Faserzüge, deren lange und dicke Gitterfasern mit Kollagenfasern untermischt waren und einen mehr oder weniger deutlichen parallelen Verlauf zeigten.

Bei 2 der genannten 8 Fälle war die Gitterfaservermehrung in der unmittelbaren Umgebung von Spongiosabälkchen lokalisiert (Abb. 4). Hier ließen sich

eindeutige Resorptionsvorgänge mit Osteoclasten und Howshipschen Lakunen nachweisen.

In drei weiteren Fällen fand sich die Faservermehrung nur in der Nähe der Deckplatten. Das hier gelegene Mark zeigte keine Blutbildung, es bestand nur aus Fettzellen. Zwischen den Fettzellen waren dichte Züge von argyrophilen und kollagenen Fasern mit Fibroblasten eingelagert. Die „Faserkörbe“ der Fettzellen waren deutlich verdichtet. Immer waren in diesen faser- und fettzellreichen Bezirken Schmorlsche Knorpelknötchen nachweisbar. Den Fibrosen

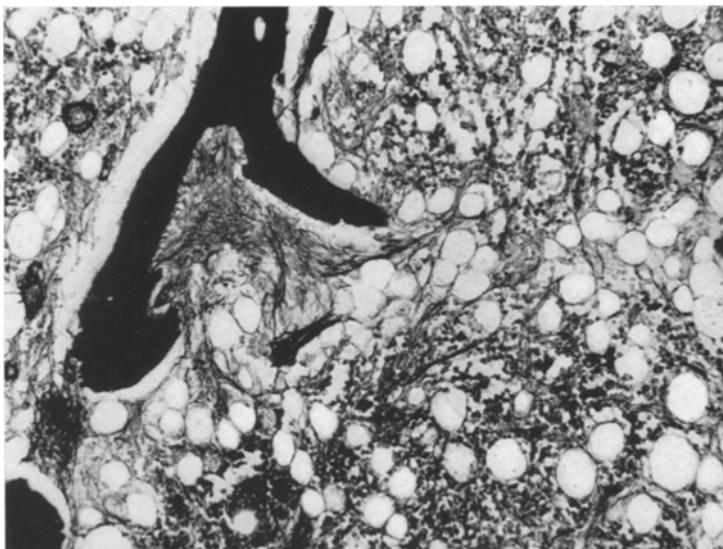


Abb. 4. Fibroosteoklasieherd im Bereich eines Spongiosabälkchens. Die Osteoclasten sind im Faserpräparat nicht erkennbar, sind jedoch in dem zugehörigen Hämatoxylin-Eosin-Schnitt in größerer Zahl zu identifizieren. Beachte die Howshipschen Lacunen. S 73/60. Gomori. 84 ×

lag somit ein Deckplatteneinbruch zugrunde, ein primärer Knochenmarksschaden bestand sicher nicht.

In 3 Fällen bestand eine herdförmige perivasculäre Faservermehrung (Abb. 5), davon einmal auch zusätzlich eine Faserverdichtung um Spongiosabälkchen herum (Abb. 6). Letztere entsprach nicht den sogenannten Fibroosteoklasieherden; es waren jedenfalls keinerlei Knochenauf- oder -abbauvorgänge zu erkennen. Die perivasculäre Faservermehrung war immer nur diskret. Sie betraf nur wenige Arteriolen oder Capillaren eines Schnittpräparates. Die Fasern waren vielfach entlang dem Gefäßverlauf parallel angeordnet und zum Teil kollagenisiert. In einem Fall lagen zwischen den Fasern herdförmig Plasmazellen, in den beiden anderen Fällen waren Lymphocyten in den Maschen der Fasern zu finden. Stets waren auch einige Bindegewebs- und Reticulumzellen nachweisbar.

Die Suche nach einer Ursache dieser perivasculären Fibrosen erbrachte kein Ergebnis. Die Sektion hatte als Hauptleiden eine apoplektische Massenblutung, ein bestrahltes malignes Melanom bzw. eine Lungenembolie nach Rectumamputation ergeben. Ein Zusammenhang mit dem Hauptleiden war nicht ersichtlich. Auch das Studium der Vorgeschiede und der klinischen Befunde ergab keine neuen Gesichtspunkte, welche die perivasculären Fibrosen verständlich machen könnten.

Bei dem 9. Fall konnten wir einige miliare, unscharf begrenzte Knötchen nachweisen, die aus mit Kohlepigment beladenen Reticulumzellen, Plasmazellen und einigen Lymphocyten bestanden (Abb. 7). Sie lagen immer unmittelbar an der Wand von Venen und Capillaren. Im Silberpräparat zeigten die Knötchen

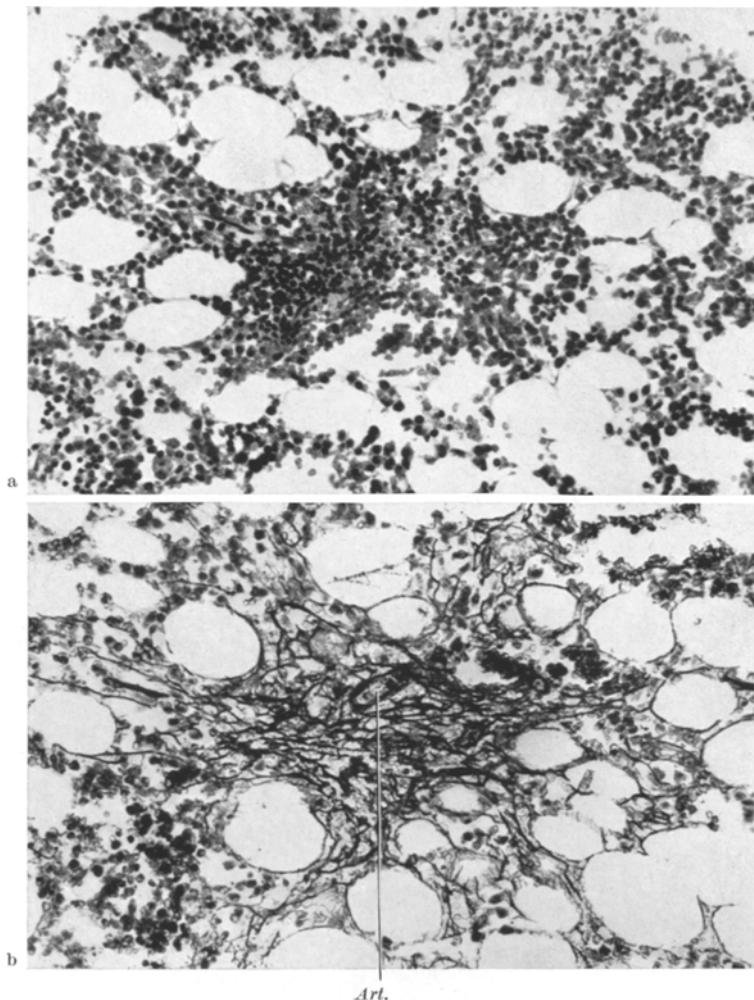


Abb. 5a u. b. Perivasculäre Faservermebrung mit Lymphocyteninfiltration. Gleiche Stelle bei Hämatoxylin-Eosin-Färbung (a) und Versilberung (b). Bei Art. eine Arteriole. S 448/59. 224 ×

eine engmaschige Netzstruktur der Fasern. In der Lunge fand sich eine Siliko-anthrakose. Wir fassen daher diese Fibroseherde als kleine hämatogen entstandene silikotische Knötchen auf.

Diskussion

Nach unseren Untersuchungen schwankt die *Fasermenge* des „normalen“ Knochenmarksparenchyms von Fall zu Fall nur gering. Dies trifft jedenfalls für das Wirbelmark zu, das wir allein für die quantitativen Faserbestimmungen heranzogen. Wahrscheinlich gilt die Aussage jedoch auch für vergleichende

Fasermessungen anderer Markbereiche, aber wohl nur in dem Sinne, daß der Fasergehalt gleicher Markbereiche untereinander weitgehend übereinstimmt, nicht aber in dem Sinne, daß die verschiedenen Markbereiche eine gleiche Fasermenge

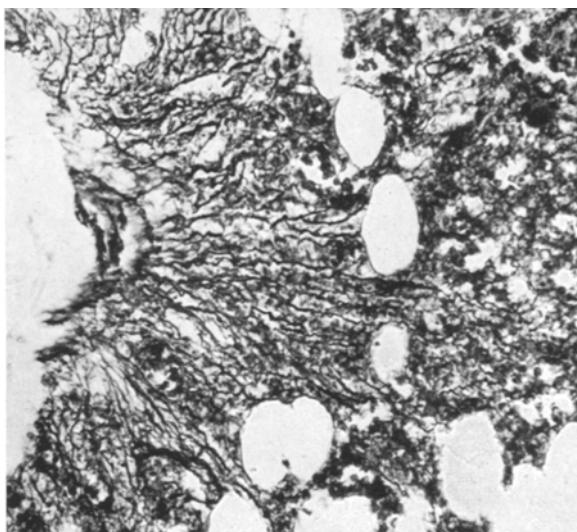


Abb. 6. Peritrabeculäre Faservermehrung ohne Zeichen von Knochenresorption. Das Knochenbalkchen ist beim Schneiden ausgebrochen. Die Fasern verlaufen radiär zu dem Knochenbalkchen.
S 448/59. Gomori. 224 ×

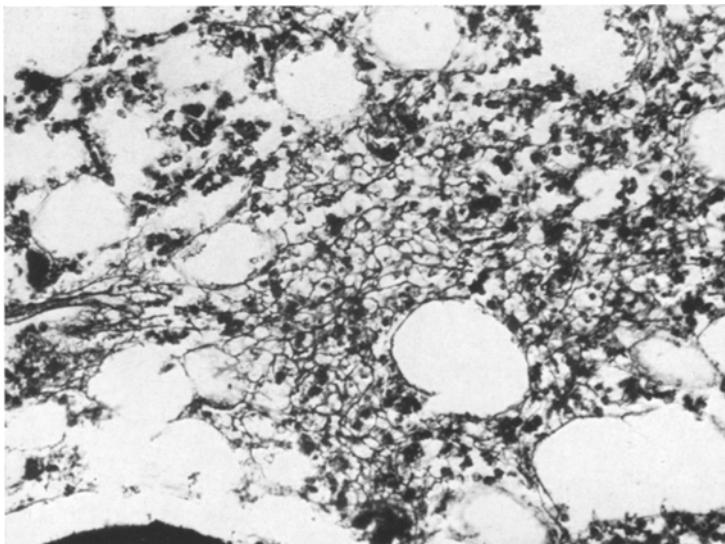


Abb. 7. Kleines silikotisches Knötchen mit reichlich anthrakotisch pigmentierten Reticulumzellen.
S 191/59. Gomori. 224 ×

zeigen. Vielmehr haben wir den — allerdings nur subjektiv gewonnenen — Eindruck, daß andere Bezirke, z. B. das Mark von Femur oder Beckenkamm, einen etwas höheren Fasergehalt aufweisen als das Wirbelmark. Das wird ver-

ständlich, wenn wir berücksichtigen, daß auch im Wirbelkörper die corticalisnahen Anteile etwas faserreicher sind als die zentralen.

Die *Faseranordnung* im Markparenchym ist locker. Die Fasern sind zart, angedeutet netzförmig, jedoch nicht alveolär oder parallel angeordnet. Eine alveolare Faserstruktur findet man nur in den Lymphfollikeln, wodurch diese im Faserpräparat besser hervortreten als im Hämatoxylin-Eosin-Schnitt, besonders wenn die Follikel klein sind. Auch die Sinus und die Capillaren sind im Faserpräparat leichter zu erkennen als bei Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

Welche Zellen die Fasern bilden, läßt sich aus unseren Untersuchungen nicht ohne weiteres ableiten. Doch spricht nichts gegen die allgemein vertretene Ansicht, daß die Reticulumzellen bzw. Uferzellen der Sinus die Gitterfasern hervorbringen. Die neuerdings von UNDRITZ (z. B. 1961) verfochtene Ableitung von den Fettzellen ist unseres Erachtens auf keinen Fall für alle Fasern des Markes gültig. So z. B. ist es schwer vorstellbar, daß die Fasern der Sinuswand von den Fettzellen abstammen. Wir sind in diesem Punkt mit FRESEN (1961) völlig einig.

Die *markunabhängigen, umschriebenen Fibrosen*, die wir in 9 von 55 Fällen nachweisen konnten, zeigen eine andere Faseranordnung als das normale Mark: Die Fasern sind nicht nur dichter, sondern oft auch parallel gerichtet und meist mit kollagenen Fasern untermischt. Dies gilt vor allem für die Fibroosteoklasieherde und die Deckplatteneinbrüche. Die Silikoseknötchen sind durch ihre anthrakotische Pigmentierung der Reticulumzellen leicht erkennbar.

Die in 3 Fällen gefundenen perivasculären Fibrosen mit Lymphocyten bzw. Plasmazellansammlungen zeigen ebenfalls vielfach parallele Fasern — entsprechend dem Gefäßverlauf — und enthalten auch einige Reticulumzellen bzw. Fibroblasten. Es dürfte sich bei diesen Fibroseherden um die Veränderung handeln, die ROHR (1960) als „chronisch interstitielle Myelitis“ bezeichnet hat. Die Bedeutung dieser Fibroseherde ist noch nicht zu übersehen. Wir fanden sie auch bei verschiedenen Leukämien und anderen hämatologischen Erkrankungen. Es liegt nahe, sie als Ausdruck einer weitverbreiteten Reaktion bzw. Aktivierung des Mesenchyms anzusehen. Ob eine Brücke von diesen diskreten perivasculären Fibrosen zur Osteomylosklerose führt, läßt sich noch nicht übersehen, erscheint aber wenig wahrscheinlich. Eine Beziehung zu hypoplastischen Zuständen des Markes war in unseren 3 Fällen nicht ersichtlich: Die Fettzellenzahl in der Umgebung der Fibrosen unterschied sich nicht von der Fettzellmenge des übrigen Markes.

Bei unseren Gitterfaseruntersuchungen stießen wir zwangsläufig immer wieder auf die sog. *Lymphfollikel*, die seit E. HEDINGER (1907) wiederholt eingehend beschrieben wurden (OEHME 1909; ASKANAZY 1915; FISCHER 1917; MAYER u. FURUTA 1924; SEGERDAHL 1935; WIENBECK 1938, 1940; KABELITZ 1950; HASHIMOTO 1953, 1957; ROHR 1960; WERNER 1960 u. a.). Sie werden unter anderen von HEDINGER, OEHME, KABELITZ als krankhafte Veränderung, von HASHIMOTO, WERNER u. a. als normaler Bestandteil des Markes aufgefaßt.

Die Angaben über die Häufigkeit der Lymphfollikel im Knochenmark sind sehr unterschiedlich. So fand MASUGI nur in 2% der untersuchten Fälle Lymphfollikel, während FISCHER eine Zahl von 62,3% angibt. Diese auffallende Diskrepanz ist wahrscheinlich untersuchungstechnisch bedingt und wird z. B. durch die verschiedene Zahl und Größe der

untersuchten Schnitte hervorgerufen. Möglicherweise spielt auch die Auswahl der Entnahmestelle des Knochenmarkes eine Rolle (HASHIMOTO, WERNER), auch das Alter der untersuchten Patienten hat wohl eine Bedeutung: Nach zahlreichen Autoren soll im Knochenmark von über 40 Jahre alten Patienten eine größere Zahl von Lymphfollikeln vorkommen als bei jüngeren Individuen.

Obwohl sich unsere Untersuchungen auf das Lendenwirbelmark beschränkten, wurden — im Vergleich zu den Literaturangaben — in einem verhältnismäßig hohen Prozentsatz (36,3 %) unserer Fälle Lymphfollikel nachgewiesen. Dies ist wohl damit zu erklären, daß wir relativ große Schnitte (1,5 : 2,0 cm) untersuchten und daß der größte Teil der Patienten älter als 40 Jahre war. In unseren Fällen war eine Beziehung zwischen Grundkrankheit und Krankheitsdauer zur Follikelzahl nicht gegeben.

Die Lymphfollikel unterscheiden sich sowohl in der Fasermenge als auch in der Faseranordnung von dem umgebenden Knochenmarksparenchym, wie schon MASUGI, ORSÓS, HASHIMOTO und WERNER feststellten. Die Fasermenge der Lymphfollikel war in unseren Präparaten etwa doppelt so hoch wie im übrigen Markparenchym. Vergleicht man das Fasernetz der Lymphfollikel des Knochenmarkes mit demjenigen des Lymphknotens, so ist der Unterschied im Fasergehalt sehr auffällig. Die Primärfollikel des Lymphknotens sind viel faserärmer als die Lymphocytenansammlungen des Knochenmarkes. Die Fasermenge und -anordnung der Knochenmarksfollikel entspricht dagegen vielmehr der Faserstruktur der Lymphknotenpulpa. Es gilt daher, zu fragen, ob es sich bei den Lymphocytenansammlungen wirklich um Äquivalente der Lymphfollikel des Lymphknotens handelt. Dies erscheint um so wichtiger, als es noch unentschieden ist, welchen Typus die als Lymphocyten bezeichneten Zellen darstellen. Sind es wirklich Lymphocyten, sind es lymphoide Reticulumzellen im Sinne von ROHR? Und wenn es sich um Lymphocyten handelt, läßt sich eine Zuordnung zu den von GRUNDMANN postulierten Follikel- oder Sinus-(=Pulpa-)Lymphocyten treffen? Die Beantwortung dieser Fragen würde sich dann mit der in England und USA vertretenen Umbildungsfähigkeit der „Lymphocyten“ berühren. Sind die „Lymphocyten“ ein Reservoir von undifferenzierten Zellen, die nach YOFFEY regeneratorische Aufgaben im Knochenmark zu erfüllen haben? Hier sind dringend weitere Untersuchungen vonnöten.

Zusammenfassung

Es wurden die Gitterfasern des „normalen“ Knochenmarkes von 55 Sektionsfällen sowohl quantitativ als auch qualitativ untersucht. Mit Hilfe einer einfachen Methodik gelingt es, den Fasergehalt zahlenmäßig zu erfassen und somit exakte, reproduzierbare Werte über die Fasermenge zu erzielen.

Die Entkalkung mit Salpetersäure und die Fixation mit der Maximowschen Lösung (Zenker-Formol) an Stelle von 10%igem Formalin üben auf die Menge und Anordnung der Markfasern keinen wesentlichen Einfluß aus.

Das „normale“ Knochenmarksparenchym zeigt einen relativ niedrigen Fasergehalt mit nur geringer Schwankungsbreite. Er beträgt $43,3 \pm 1,7 \text{ mm/mm}^2$. Die Fasern sind fein und im allgemeinen unregelmäßig oder angedeutet netzförmig angeordnet.

Der Fasergehalt von Lymphfollikeln ist etwa doppelt so hoch wie der des umgebenden Markparenchyms. Die Fasern zeigen hier eine relativ regelmäßige alveolare Anordnung.

In 3 Fällen wurde eine umschriebene Faservermehrung in der Umgebung von Gefäßen, zum Teil auch in der Umgebung von Spongiosabälkchen nachgewiesen. Gleichzeitig bestand hier eine stärkere Vermehrung von Lymphocyten oder Plasmazellen, auch einige Reticulumzellen bzw. Fibrocyten waren beigemischt.

Quantitative and qualitative studies on reticulin fibers in the bone marrow.

I. Normal bone marrow

Summary

The reticulin fibers of "normal" bone marrow from 55 autopsies were examined both quantitatively and qualitatively. With the aid of a simple procedure, it was possible to arrive at an exact numerical value for the numbers of fibers present.

The procedure of decalcification with nitric acid and fixation with MAXIMOW's solution (Zenker-Formol) instead of 10% Formalin had no effect on the amount and arrangement of the marrow fibers.

The "normal" bone marrow showed a relatively low value of fibers with an insignificant variation range. It amounted to 43.3 ± 1.7 mm/mm². The fibers were fine and tender and, in general, irregularly or slightly net-like arranged.

The number of fibers in the lymph follicles is about twice as high as in the surrounding marrow. These fibers show a relatively regular alveolar arrangement.

In three cases, a circumscribed increase of fibers in the region of vessels, sometimes also in the region of bone trabecula occurred. In these places the number of lymphocytes or plasma cells was increased, a few reticular cells i.e. fibrocytes were also present.

Literatur

- ALFEJEW, S.: Über die embryonale Histogenese der kollagenen und retikulären Fasern des Bindegewebes bei Säugetieren. *Z. Zellforsch.* **3**, 149—164 (1926).
- ASKANAZY, M.: Über die Lymphfollikel im menschlichen Knochenmark. *Virchows Arch. path. Anat.* **220**, 257—275 (1915).
- Knochenmark. In *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie (HENKE-LUBARSCH)*, Bd. I/2. Berlin: Springer 1927.
- BRÜCHER, H.: Untersuchungen zur Morphologie der Makroglobulinämie Waldenström. *Dtsch. Arch. klin. Med.* **203**, 414—422 (1956).
- , u. S. NATHAN: Untersuchungen über das Verhalten des argyrophilen Fasernetzes beim Plasmocytom. *Acta haemat. (Basel)* **16**, 30—36 (1956).
- ELSTER, K., K. REICHEL u. M. ROTH: Ein Beitrag zur Retikulumfaserdarstellung mit der Silberimpregnation nach GÖMÖRI. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **99**, 91—98 (1959).
- FISCHER, O.: Über die Lymphknötchen im menschlichen Humerus-, Wirbel- und Rippenmark. *Frankfurt. Z. Path.* **20**, 347—380 (1917).
- FRESEN, O.: Zur normalen und pathologischen Histologie des retikuloendothelialen Systems, Retikulose-Monocyteneukämie. *Habil.-Schr. Düsseldorf* 1945.
- Zur Histomorphologie des retikuloendothelialen Systems. *Klin. Wschr.* **1946**, 100—104.
- Diskussion zum Vortrag von UNDRITZ: 8. Kongr. der europ. Ges. f. Hämat., Wien 1961.
- GOMORI, G.: Silver impregnation of reticulum in paraffin sections. *Amer. J. Path.* **13**, 993—1002 (1937).

- GRUNDMANN, E.: Die Bildung der Lymphocyten und Plasmazellen im lymphatischen Gewebe der Ratte. *Beitr. path. Anat.* **119**, 217—262 (1958).
- HASCHEN, R. J.: Das Retikulum des Knochenmarkes im Lichte der Silberimprägnation von Sternalpunktaten. *Acta haemat. (Basel)* **16**, 235—246 (1956).
- HASHIMOTO, M.: Histological structure of the bone marrow. [Japan.] *Symposium on Hematology* **5**, 114—172 (1953).
- , M. HIGUCHI and T. SAITO: Lymph nodules in human bone marrow. *Acta path. jap.* **7**, 33—52 (1957).
- HECKNER, F., u. H. VOTH: Cytologische Begriffsbestimmung der Retikulumzellen. I. Mitteilung. Ergebnisse am Knochenmarkpunktat. *Dtsch. Arch. klin. Med.* **201**, 511—523 (1954).
- HEDINGER, E.: Über die Kombination von Morbus Addisonii mit status lymphaticus. *Frankfurt. Z. Path.* **1**, 527—543 (1907).
- KABELITZ, H. J.: Klinische und hämatologische Beobachtungen zur Entwicklung lymphatischer Keimzentren im Knochenmark. *Acta haemat. (Basel)* **3**, 347—366 (1950).
- LENNERT, K.: Quantitative Gitterfaserstudien im Knochenmark. *Verh. dtsch. path. Ges.* **44**, 349—351 (1960).
- LILLIE, R. D.: *Histopathologic technic and practical histochemistry*. New York u. Toronto: Blakiston 1954.
- MASUGI, M.: Über die Veränderungen des Knochenmarkes bei verschiedenen Erkrankungen mit besonderer Berücksichtigung der Gitterfasern. — Ein Beitrag zur Pathogenese der primären Erkrankungen des myeloischen Systems. *Jap. J. med. Sci. V. Pathology* **1**, 1—38 (1926).
- MAXIMOW, A.: Bindegewebe und blutbildende Gewebe. In *Handbuch der mikroskopischen Anatomie*, Bd. II/1, S. 232—583. Berlin: Springer 1927.
- MAYER, E., u. S. FURUTA: Zur Frage der Lymphknötchen im menschlichen Knochenmark. *Virchows Arch. path. Anat.* **258**, 574—584 (1924).
- ÖHME, C.: Lymphfollikel im kindlichen Knochenmark. *Münch. med. Wschr.* **1909**, 446—449.
- ORSÓS, F.: Das Bindegewebsgerüst des Knochenmarkes im normalen und pathologischen Zustand. *Beitr. path. Anat.* **76**, 36—86 (1927).
- Fettgewebsstrukturen im Gallertmark. *Beitr. path. Anat.* **78**, 551—583 (1927).
- ROHR, K.: Das menschliche Knochenmark, 3. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme 1960.
- ROMEIS, B.: *Mikroskopische Technik*, 15. Aufl. München: Leibnitz 1948.
- SEGERDAHL, E.: Über Sternalpunktionen. *Acta med. scand., Suppl.* **64**, 1—162 (1935).
- UNDRITZ, E.: Die nicht zur Blutkörperchenbildung gehörenden Zellen intravitaler Knochenmarkspunktate nebst Auszählungsschema für Myelogramm. *Schweiz. med. Wschr.* **76**, 333—337 (1946).
- Die Retikulumzelle. Vortrag beim 8. Kongr. der europ. Ges. f. Hämatol. Wien 1961.
- WERNER, W.: Die Lymphknötchen im menschlichen Knochenmark. *Frankfurt. Z. Path.* **70**, 398—408 (1960).
- WIENBECK, J.: Die Granulopoese des kindlichen Knochenmarkes und ihre Reaktion auf Infektion. *Beitr. path. Anat.* **101**, 268—299 (1938).
- Anatomische Befunde bei menschlicher Leukämie. II. Das Knochenmarksbild bei Lymphadenose. *Fol. haemat. (Lpz.)* **63**, 354—360 (1940).
- YOFFEY, J. M., and F. C. COURTICE: *Lymphatics, lymph and lymphoid tissue*. London: Edward Arnold 1956.

Prof. Dr. K. LENNERT, Pathologisches Institut, 69 Heidelberg, Voßstr. 2