

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie und Therapie der Kgl. ung. Franz Josef Universität in Szeged-Ungarn [Direktor: Dr. A. v. Jeney, o. ö. Prof.].)

Weitere Beobachtungen an blutbildenden Organen in Gewebekulturen*.

Von

Prof. Dr. A. v. Jeney.

Mit 3 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 27. Juni 1932.)

Bei meinen neueren Untersuchungen bediente ich mich in Übereinstimmung mit meinen früheren Versuchen¹ folgenden Verfahrens: Die aus den Kaninchen keimfrei entnommenen Milz- und Knochenmarkstückchen werden zerstückelt und in Reagensröhrchen gebracht, die heparinhaltiges, mit einer Tyrodelösung doppelt verdünntes Eigenplasma enthalten. Vor der Gerinnung des Plasmas werden die einzelnen Reagensröhrchen mit verschiedenen Organextrakten und biochemischen Produkten versetzt. Nach 2 Tage langem Stehen im Brutschrank Fixieren der Organteile in *Tellyesnicky*-Lösung oder in 4%igem Formalin. Ein Teil der Paraffinschnitte wird mit Hämatoxylin-Eosin, der andere Teil mit Methylenblau-Eosin gefärbt. In vielen Fällen wird auch die Eisenreaktion mit Berlinerblau ausgeführt.

Es soll jetzt die Wirkung der Leber- und Milzextrakte, des Bilirubins, Cholesterins, der Ferro- und Ferrisalze kurz besprochen werden:

Wirkung des (75%igen alkoholischen) Leberextraktes.

Auffallend die große Menge brauner Pigmentschollen und nadelförmiger Krystalle am freien Rande der Milzstückchen. Die Krystalle teils vereinzelt, teils rosettenförmige Gruppen bildend; zum Teil frei, zum Teil innerhalb von Makrophagen. Bei Bewegungen der Mikrometerschraube kann man deutlich, insbesondere in der Umgebung der intracellulär gelegenen Krystalle, helles grasgrünes Pigment wahrnehmen, das nach allen Anzeichen als Bilirubin angesprochen werden darf. An der Eisenreaktion unter unseren Präparaten ist außer den Hämatoidinkrystallen und dem grünen Pigment auch noch Eisenpigment sichtbar.

Auch im Knochenmark in den Randteilen große Mengen nadelförmiger brauner Krystalle. Das Organ zellreich; insbesondere viel primitive Blutzellen mit großen hellen blasenförmigen Kernen und einem doppelten Kernkörperchen. Auch die

* Diese Untersuchungen wurden durch die Unterstützung der Rockefeller-Stiftung ermöglicht.

Normoblasten vermehrt, einige von ihnen in direkter Kernteilung. Normale, reife rote Blutkörper — wie im allgemeinen in den meisten mehr als 48 Stunden überlebenden Organstückchen — bloß in geringer Zahl in normalem Zustand anzutreffen. Ihre Zerfallsprodukte innerhalb der Makrophagen. In vielen Makrophagen auch grünes Pigment.

Keiner der anderen Organextrakte bewirkte das Auftreten so großer Mengen von nadelförmigen Krystallen am Rande der Milz- und Knochenmarkstückchen wie der Leberextrakt.

Wirkung des (wässrigen) Milzextraktes.

Knochenmark. Insbesondere am Rande die Myeloblasten vorwiegend Normoblasten vermindert. Bei der Gegenwart von Ferrisalzen nimmt

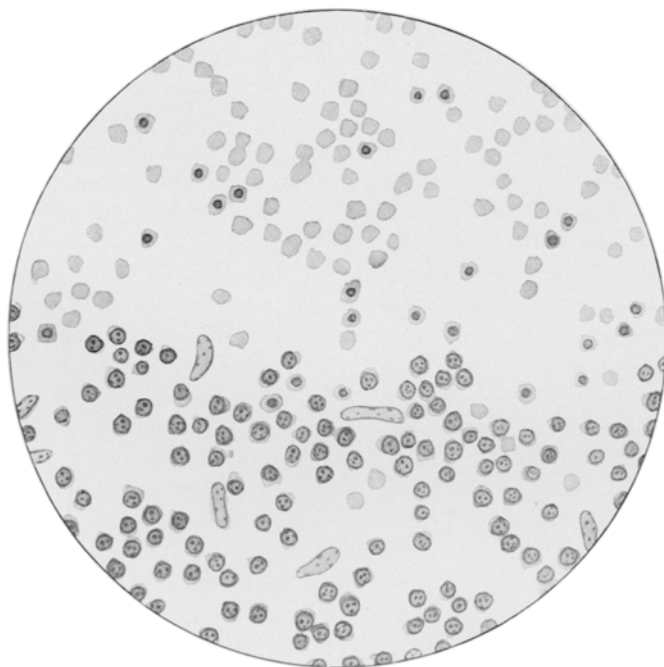


Abb. 1. Kaninchen 7. Milz. Im Plasma Bilirubin, Ferrochlorid.

diese Wirkung ab; noch mehr, wenn neben den Ferrisalzen auch noch Cholesterin verwendet wurde. Wird neben das Knochenmarkstückchen ein kleines Milzstückchen gelegt, dann erscheint das Knochenmark an der dem Milzstückchen zugewendeten Seite zellärmer.

Bilirubin.

Die Rolle des Bilirubins und im allgemeinen der Gallenbestandteile bei den mit der Blutregeneration zusammenhängenden Vorgängen erregte meine Aufmerksamkeit schon bei meinen seinerzeit (1924)

in Amerika ausgeführten Versuchen. Dies hatte zur Folge, daß ich nach Beendigung meiner Untersuchungen auf dem Gebiete der Leberextrakte, noch an derselben Arbeitsstelle mit den Versuchen ² begonnen hatte, die die Wirkung des mechanischen Ikterus auf die blutbildenden Organe zum Gegenstand hatten. Als Fortsetzung dieser Versuche wurde auch die selbständige Wirkung des Bilirubins auf die Blutregenerationsvorgänge gesondert beobachtet. Meine mit Hilfe der Blutkörperzählung erhaltenen Befunde führten jedoch noch zu keinem einheitlichen Ergebnis. Bei jenen Versuchen, in denen das Knochenmark der unmittelbaren Bilirubinwirkung ausgesetzt worden war, konnte ich das Auftreten einer Hyperplasie beobachten ³. Bei den Untersuchungen, bei denen ein mit dem jetzigen übereinstimmendes Verfahren angewendet worden war, konnte ich jedoch zeigen, daß diese Wirkung des Bilirubins nicht eintritt, wenn es vorher mit Äther und Alkohol extrahiert war. Die Zahl der kernpyknotischen Zellen nimmt zwar etwas zu, das Organstückchen wird jedoch im ganzen nicht zellreicher; es sind in demselben mehr Zellen lymphoiden Charakters zu sehen. Auf Grund dieser Erhebungen sprach ich vor Jahresfrist meine Zweifel in bezug auf die allein stehende Bedeutung des Bilirubins aus ⁴.

Im Laufe meiner wiederholten Versuche fiel mir auf, daß in den Randteilen der Milz Normoblasten dann gruppenweise erscheinen, wenn das Plasma außer mit Bilirubin auch noch mit einer Eisenverbindung versetzt worden war (Abb. 1).

Diese Beobachtung brachte mich auf den Gedanken, aus der Milz einen alkoholischen Extrakt anzufertigen und diesen mit Bilirubin bzw. mit dem Leberextrakt vereinigt in das die Knochenmarkstückchen enthaltende Plasma zu bringen, einmal in der Gegenwart von Eisenverbindungen, ein andermal ohne diese.

Wirkung des alkoholischen Milzauszugs.

Allein verwendet kommt es im Knochenmark zu keiner nennenswerten Zellvermehrung. Normale reife rote Blutkörper auch in diesen Präparaten nicht sichtbar, bloß ihre Zerfallsformen (Schistocyten, Sphaerulæ) in Makrophagen. Rotes und grünes körniges Pigment in großer Menge in Zellen angeordnet.

Wird außer diesem Extrakt auch noch Leberextrakt und Ferrochlorid zu dem Knochenmarksexplantat hinzugefügt, dann zeigt dieses nach 48 Stunden einen auffallenden Zellreichtum im Vergleich zu den Vergleichsversuchen. Außer den primitiven Blutkörpern erscheinen nun zahlreiche, sehr viel direkte Teilungen aufweisende Normoblasten.

In der Milz erscheint bei ähnlicher kombinierter Behandlung außer zahlreichen Hämatoidinkrystallen außerordentlich viel lebhaft grünes Pigment, das zum größten Teil innerhalb der Makrophagen angeordnet ist. In vielen Makrophagen sieht man außerdem gröbere und feinere eosinophile Körnchen unter das grüne Pigment verstreut.

Wirkung des alkoholischen Milzextraktes und des Bilirubins.

Knochenmark. Zellreichtum; insbesondere in den Randteilen erscheinen Gruppen von Normoblasten und Megaloblasten. Mehrere von diesen in direkter und indirekter Kernteilung. Ziemlich viel Megakaryocyten; in den Makrophagen viel eosinophiles Pigment und Schistocyten.

Diese Wirkung schien zuzunehmen, wenn gesondert Ferrochlorid und Cholesterin hinzugefügt wurde. In einem dieser Versuche erschienen in den Randteilen des ausgepflanzten Knochenmarkes Normoblasten und Erythroblasten mehrfach geschichtet (Abb. 2 und 3). Die kombinierte Wirkung der beiden Stoffe kommt insbesondere darin zum Ausdruck, daß die Kerne der Erythroblasten pyknotisch werden und auch Megaloblasten in größerer Menge erscheinen.

Ich glaube annehmen zu dürfen, daß die im Handel erhältlichen Bilirubinpräparate mit diesem lipoidlöslichen Stoffe „verunreinigt“ sind. Diese Bilirubinpräparate zeigen eben deshalb eine Wirkung auf die Erythropoëse. Diese Wirkung nimmt aus demselben Grunde ab, wenn die Bilirubinpräparate vor ihrer Verwendung mit Alkohol und Äther extrahiert werden und sie nimmt wieder zu, wenn der alkoholische Milzauszug dem System wieder beigemengt wird. Zur Bildung der Normoblasten bedarf es scheinbar beider Stoffe, d. h. des Bilirubins und des lipoidartigen Anteils.

Wirkung der Ferro- und Ferrisalze.

Unter der Einwirkung der Eisenverbindungen werden die Gewebestückchen besser erhalten. Die sonst wiederholt zu beobachtende Nekrobiose in den Randteilen ist hier schwächer und kann sogar auch ganz fehlen.

Wird das Plasma mit einem Ferrosalz versetzt, dann ist der Eisengehalt der Milz im allgemeinen scheinbar ein größerer als bei der Verwendung eines Ferrisalzes. Eine deutliche Eisenreaktion war jedoch auch dann zu beobachten, wenn die Verabreichung von Leberextrakt und Bilirubin mit Ferrisalzen vereinigt worden war. In einem Falle auch bei der Verwendung von Leberextrakt, Cholesterin und einem Ferrosalz.

Cholesterinwirkung.

Im allgemeinen scheinen die Organe ziemlich zellreich. Auffallend ist, daß ein Teil der reifen roten Blutkörper auch nach 48 Stunden noch erhalten ist und nicht so zerfällt wie bei den anderen Explantaten. Hier finden sich nur im Inneren der Gewebestücke inner- und außerhalb von Zellen angeordnete rote Blutkörperchentrümmer. Offenbar bildet das Cholesterin einen Schutz gegen ein sonst zur Geltung gelangendes hämolytisches Agens. Die Milzknötchen zellreich; mit Lymphocyten gefüllt.

Auch im Knochenmark vornehmlich lymphoide Zellen. Wurden außer (alkoholischem) Milzauszug und Bilirubin auch noch Cholesterin und Ferrosalze verwendet, dann waren ausnahmsweise auch hyperchromatische rote Blutkörper in geringer Menge am Rande des Knochenmarkstückchens zu finden.

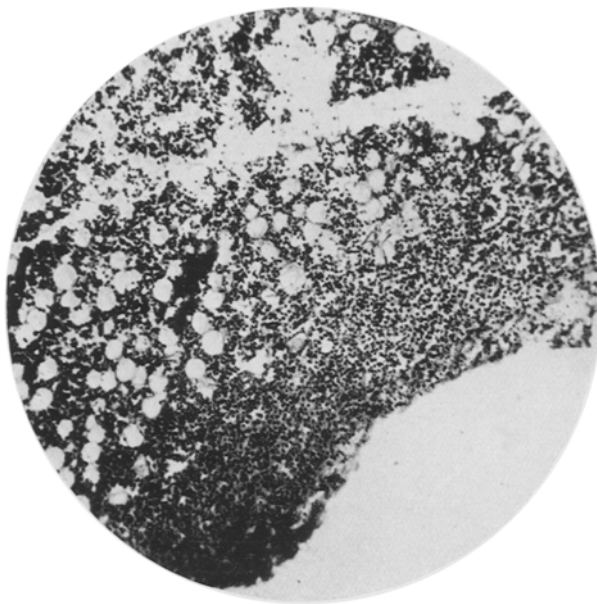


Abb. 2. Kaninchen 17. Knochenmark. Im Plasma Bilirubin, Ferrochlorid und alkohol. Milzextrakt.

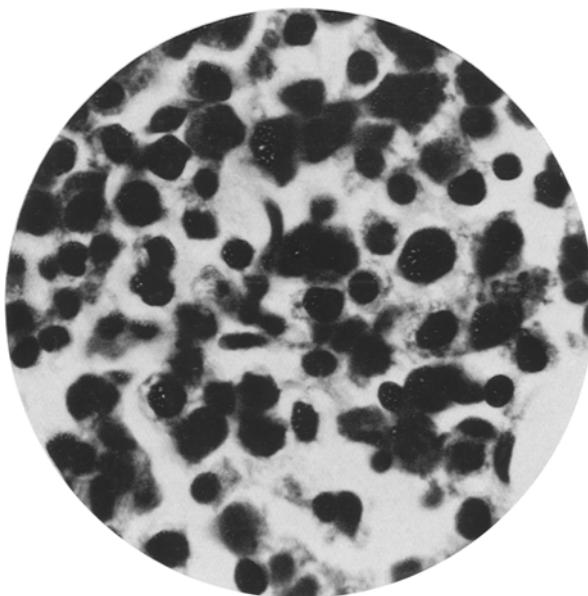


Abb. 3. Kaninchen 17. Knochenmark. Im Plasma Bilirubin, Ferrochlorid und alkohol. Milzextrakt.

Schlußfolgerungen.

Aus den bisherigen Ergebnissen läßt sich feststellen, daß die verwendete Versuchsanordnung sich bloß dazu eignet, uns über die Entwicklung der roten Blutkörper bis zum Normoblastenstadium einigen Aufschluß zu geben. Zur Beleuchtung der auf die Ausbildung der reifen roten Blutkörper einwirkenden Faktoren scheint das bisher angewendete Verfahren sich nicht zu eignen. Es erscheint wahrscheinlich, daß bei der Entstehung der primitiven Blutkörper („primitive große Lymphocyten“) und bei der Heranbildung der Normoblasten und Megaloblasten jeweils andere Reize eine Wirkung ausüben. Bei jenen dürften die Bestandteile der Leberextrakte, bei diesen das Bilirubin, der alkoholische Milzextrakt sowie die Ferroverbindungen eine wichtige, vielleicht spezifische Rolle spielen. Man hat auch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß bei dem Schlußvorgang der Zellreifung, bei der Ausbildung der reifen roten Blutkörper, noch ein neuerer auslösender Faktor anderen Charakters zur Geltung komme. Vielleicht bedingen eben diese in einer ausgeprägten Reihenfolge zur Geltung gelangenden Faktoren den Umstand, daß die restlose Erkenntnis der bei der Blutregeneration mitspielenden Lebenserscheinungen so große Schwierigkeiten bereitet.

Schrifttum.

¹ *Jeney, A. v.*: Beobachtungen über das Verhalten blutbildender Organe in Gewebekulturen. I. Kongr. Internat. Microbiol. Paris 1930. — ² *Jeney, A. v.*: Über die Wirkung der künstlichen Gallenstauung auf die Blutbildungsorgane bei Kaninchen. *Z. exper. Med.* **60**, H. 1/2, 102—115 (1928). — ³ *Jeney, A. v.*: Über die unmittelbare Wirkung der Gallenbestandteile auf das Knochenmark. *Virchows Arch.* **280**, H. 1, 306—310 (1931). — ⁴ *Jeney, A. v.*: Die Behandlung von Anämien. Zusammenfassendes Referat. Tagg ung. Ges. inn. Med. Budapest, Juni 1931.
