

II. Aus der medicinischen Universitätspoliklinik in Zürich.
(Director: Prof. Dr. Müller.)

Ueber rothes Knochenmark und Myeloblasten.

Von Dr. **Otto Naegeli**, I. Assistenten der Poliklinik.

Die Histologie des Knochenmarks ist eines jener Gebiete, auf dem die Forschung noch viele Probleme zu lösen hat und auf dem die Erkenntniss in Folge der schwierigen Verhältnisse nur langsam weiter schreitet.

Die bisherige histologische Bearbeitung lässt sich unschwer in zwei Stadien, das rein morphologische und das morphologisch-histochemische, eintheilen. In der ersten Epoche waren nur grob morphologische Gesichtspunkte maassgebend. Die Autoren unterschieden im Knochenmark rothe und weisse Zellen, und unter den letzteren fielen ihnen besonders auf die Riesenzellen, die blutkörperchen- und pigmenthaltigen Elemente und endlich die gewöhnlichen Knochenmarkszellen.

Bei den letzteren wurde anfangs auf eine weitergehende Eintheilung verzichtet; erst Cohnheim¹⁾ bahnt eine gewisse Trennung an, indem er die farblosen Markzellen bei perniciöser Anämie

¹⁾ Cohnheim, Erkrankungen des Knochenmarks bei perniciöser Anämie. Virchow's Archiv Bd. LXVIII.

schildert als Elemente, die unter sich an Grösse sehr verschieden sind, vielfach ganz den Lymphkörperchen gleichen, vielfach aber auch relativ gross sind und einen, hie und da auch zwei grosse bläschenförmige Kerne von epitheliale Habitus besitzen.

Bizzozero¹⁾ kennt im rothen Mark rothe Blutkörperchen, Riesenzellen mit sprossendem Centralkern, gewöhnliche weisse Blutkörperchen, die sich aber nur in den Gefässen finden sollen, und endlich noch Zellen, die in grosser Menge vorkommen, den weissen ähnlich, kugelig und einkernig sind, die oft auch kleine Fettkörnchen (später erst als eosinophile Granula erkannt) enthalten.

Cornil²⁾ unterschied bereits drei Arten weisser Knochenmarkzellen: 1. Cellules lymphatiques, 9—12 μ messend, sonst aber gebaut wie die folgenden. 2. Cellules médullaires, die er mit den Médullocèles von Robin identificirte, die 20—40 μ messen, kugelige Form haben, deren Kern S-förmig, Z-ähnlich, polymorph oder netzförmig gebaut ist. 3. Grandes cellules de la moelle des os, Riesenzellen, Robin's Myeloplaxen.

Das einzig trennende zwischen der ersten und zweiten Gruppe war also die Zellgrösse und offenbar auch die Aehnlichkeit der ersten Form mit Lymphocyten. Arnold³⁾ hielt sich an ein anderes differenzirendes Moment, indem er ausser kernhaltigen und kernlosen rothen Blutkörperchen, Fettzellen und Riesenzellen, die übrig bleibenden in zwei Gruppen trennte, die er wie folgt beschreibt: 1. Kern hell, bläschenförmig, Protoplasma ziemlich breit, enthält viele glänzende, verschieden grosse Körner, die sich mit Eosin roth färben. 2. Kern frisch schwer zu erkennen, das Protoplasma fein granulirt. Die Zellen dieser Gruppe sehr verschieden gross.

Soweit war etwa die histologische Erforschung des Markes gelangt, als sie durch die Arbeiten Ehrlich's in das zweite Stadium eintrat, in dem nun auch das histochemische Verhalten der Zellen eine hervorragende Bedeutung erlangte.

Ehrlich⁴⁾ unterscheidet die weissen Markzellen hauptsächlich nach dem chemischen Verhalten ihrer Granula und gelangt zu zwei Hauptgruppen, körnchenhaltige und körnchenfreie Zellen. Unter den ersteren nimmt er wieder eine prinzipielle Scheidung vor in Zellen mit Granula, die in der ganzen Wirbelthierreihe vorkommen, eosinophile und basophile Markzellen, und in Zellen mit Specialgranula, die für bestimmte Thierspecies charakteristisch sind, für den Menschen die neutrophilen. Ehrlich kennt also für den Menschen 1. Myelocyten, grosse mononucleäre neutrophil gekörnte Zellen und ihre Uebergänge zu neutrophilen polymorphkernigen Gebilden. 2. Eosinophile. 3. Basophile Markzellen. 4. Granulafreie Zellen, die an Menge und Bedeutung sehr zurücktreten, unter ihnen die Riesenzellen.

Diese histochemische Eintheilung wird auch den morphologischen Verhältnissen gerecht; sie hat deshalb sehr rasch Anerkennung gefunden. Manche Autoren haben versucht, die früher aufgestellten Zellarten mit diesen verschiedenen Ehrlich'schen Markzellen zu identificiren. Diesem Bestreben stehen grosse, in Folge ungenügender Beschreibung vielfach unüberwindbare Schwierigkeiten entgegen. So darf man zwar bei der früheren Eintheilung Arnold's die erste Gruppe für eosinophile, die zweite für neutrophile Markzellen erklären, weil Arnold ja auch schon auf die Körnung Rücksicht nimmt. Dagegen ist für die Cohnheim'schen Zellen mit epitheliale Charakter und für die Cornil'schen Cellules médullaires eine nachträgliche Identification mit den Ehrlich'schen Arten unmöglich, weil es sowohl granulafreie wie granulohaltige Zellen giebt, die ihnen entsprechen könnten, und die Autoren den Körnern keine Beachtung geschenkt haben. Die von H. F. Müller⁵⁾ vorgenommene Identification der Cellules médullaires von Cornil und der Médullocèles von Robin mit den Myelocyten kann ich aber auch deshalb nicht als gelungen betrachten, weil die Kerne dieser Zellen zumeist als stark polymorph beschrieben und gezeichnet sind. Ausserdem ist H. F. Müller die zum Identitätsnachweis absolut erforderliche Färbung der neutro-

philen Granula nicht gelungen. Meiner Meinung nach entsprechen diese Cellules médullaires, wie auch die Zellkategorieen anderer Autoren nicht einer, sondern mehreren Ehrlich'schen Arten zugleich, so umfassen Cornil's Zellen z. B. Myelocyten und polymorphkernige neutrophile Markzellen und grosse granulöse Zellen.

Durch die Ehrlich'sche Classification ist zweifellos die Abgrenzung bestimmter Markzellen in voller Schärfe gelungen; nur eine Gruppe, die granulafreien Gebilde, sind sehr wenig charakterisirt geblieben, und ihre Deutung hat denn auch in der Folgezeit zu lebhaften Meinungsverschiedenheiten geführt.

Engel¹⁾ hat die granulafreien Zellen wiederum getrennt in grosse, einkernige Leukocyten ohne Granula (Markzellen) und in Lymphkörperchen. Bei dieser Eintheilung, wie auch bei derjenigen anderer Autoren, spielt der Begriff der Troje'schen Markzellen eine Rolle, es muss indessen daran erinnert werden, dass diese Troje'schen Zellen nach der Ansicht der competentesten Autoren²⁾ keine Knochenmarksabkömmlinge, sondern grosse Lymphocyten sind.

Arnold³⁾ hat sodann später die Ehrlich'schen Zellarten des Markes einer eingehenden Prüfung unterworfen und lässt die Eintheilung im ganzen gelten, wenn er auch das ausschliessliche Vorkommen nur einer Art Granula in einer Zelle bestreitet. Die granulafreien Elemente schildert er als kleinere und grössere den Lymphocyten gleichende Zellformen und ist, wenn auch noch etwas vorsichtig zurückhaltend, geneigt, sie mit Lymphocyten zu identificiren.

In einer sorgfältigen und ergebnissreichen Arbeit hat sich in letzter Zeit Pappenheim⁴⁾ über die Elemente des Knochenmarkes ausgesprochen. Er untersuchte das Mark tiefstehender Säuger und von Kaninchenembryonen und fand hier die granulafreien Zellen dominirend. Er identificirt die kleineren von ihnen mit den Lymphocyten, lässt aus denselben dann einerseits rothe Blutkörperchen, andererseits die übrigen Formen der weissen Blut- und Markzellen durch Grössenwachsthum und Einlagerung von Granula hervorgehen. Unter den granulösen Zellen unterscheidet er kleine Lymphocyten, grosse Lymphocyten (diese sollen nur autochthon im Knochenmark entstehen können), und sodann noch Zellen, deren Kern Einkerbungen zeigt oder deren Protoplasma breiter entwickelt ist. Er führt diese dritte Gruppe als Entwicklungsstufen der Lymphocyten auf und hält die Troje'schen Markzellen und die grossen mononucleären Leukocyten Ehrlich's für identisch mit denselben.

Die granulösen Knochenmarkzellen, die Ehrlich für den Menschen als an Zahl und Bedeutung zurückstehend geschildert hat, treten durch diese Untersuchungen in den Vordergrund des Interesses für die Entwicklung der Mark- und Blutzellen, desgleichen aber auch für die vergleichende Anatomie, Embryologie und, wie ich gleich zeigen werde, für die Pathologie des Knochenmarkes.

Wenn ich die körnchenfreien Gebilde des normalen und des pathologisch veränderten rothen Knochenmarkes schildern soll, so muss ich mich in erster Linie an morphologische Kennzeichen halten.

I. Die kleinsten granulafreien Zellen entsprechen an Grösse ungefähr den Lymphocyten, sie sind rundlich oder rundlich oval, der Kern ist zur Zelle concentrisch und füllt sie fast ganz aus. Er ist meist chromatinreich. Das schmale Protoplasma verhält sich basophil. Gerade diese Form überwiegt nach Pappenheim im embryonalen Mark und im Mark niedrig stehender Säuger, ebenso nach meinen Erfahrungen im Knochenmark des Typhus, der perniciosen Anämie und mancher Leukämien.

II. Wie Pappenheim finde ich ferner grössere Zellen durchaus ähnlichen Charakters, bei denen der Kern meist etwas blasser ist und oft eine leichte Einbuchtung zeigt.

III. Endlich begegnet man Markzellen, die noch grösser sind, deren Kern völlig demjenigen der Myelocyten entspricht; Zellen, deren Protoplasma reichlicher ist und sich basophil verhält, kurzum Markzellen, die von den fehlenden Granula abgesehen durchaus den Myelocyten entsprechen.

¹⁾ C. S. Engel, Deutsche medicinische Wochenschrift 1898, No. 47.

²⁾ Siehe Ehrlich, Die Anämie, S. 48.

³⁾ Arnold, Zur Morphologie und Biologie der Zellen des Knochenmarkes. Virchow's Archiv Bd. CXL.

⁴⁾ Pappenheim, Vergleichende Untersuchungen über die elementare Zusammensetzung des rothen Knochenmarkes einiger Säugethiere. Virchow's Archiv Bd. CLVII.

¹⁾ Bizzozero, Studien über das Knochenmark. Ref. Virchow's Archiv Bd. LII.

²⁾ Cornil, Sur la multiplication des cellules de la moelle des os etc. Archives de physiologie norm. et pathol. 1887.

³⁾ Arnold, Beobachtungen über Kerne und Kerntheilungen in den Zellen des Knochenmarks. Virchow's Archiv Bd. XCIII.

⁴⁾ Ehrlich, Die Anämie. Nothnagel'sche Sammlung 1898. Hierin die Ergebnisse seiner zahlreichen Arbeiten.

⁵⁾ H. F. Müller, Zur Leukämiefrage. Deutsches Archiv für klinische Medicin Bd. XLVIII.

Selbst der grösste Skeptiker in Bezug auf Uebergangsformen muss nun zugeben, dass die obige Eintheilung eine künstliche ist, dass neben den drei Formen sehr reichlich Zellen vorkommen, die zwischen I und II und zwischen II und III die Mitte halten; ja, es kann nicht zweifelhaft bleiben, dass auch zwischen III und den Myelocyten intermediäre Gebilde mit diffus neutrophil gefärbtem Hof oder mit vereinzelt neutrophilen Granula oft genug auftreten.

Aus diesem Nebeneinander der Formen ist für die Entwicklung noch gar nichts bewiesen; allein es drängt sich mir, wie auch Arnold und Pappenheim, die Vorstellung geradezu auf, dass die Genese in dieser Weise vor sich gehe.

Die Streitfrage von prinzipieller Bedeutung geht jetzt aber dahin, in welchem Sinne sind diese granulösen Markzellen aufzufassen; sind es Lymphocyten, sind es andere Gebilde? Die Frage bejahen, hiesse zugeben, dass es Lymphocyten des Knochenmarkes und des lymphatischen Apparates giebt. Während Arnold noch eine gewisse Reserve behält und von lymphocytenähnlichen Elementen spricht, deutet sie Pappenheim mit grosser Bestimmtheit als wahre Lymphocyten und glaubt auf Grund seiner Färbungen die Identität bewiesen zu haben. Er beruft sich erstens auf die vollständig übereinstimmende Form und Grösse, und zweitens auf das gleiche histochemische Verhalten. Ganz besonders glaubt er durch den identischen Ausfall der Methylgrün-Pyroninfärbung, die er als Reagens auf basophile granulationslose Zellen rühmt, den Beweis geführt zu haben.

Bei der actuellen Bedeutung dieses Satzes und seinen nothwendigen Folgen für die Hämatologie möchte ich mir erlauben, alle Gründe und Gegenstände dieser Auffassung der granulösen Markzellen als Lymphocyten in kritische Erwägung zu ziehen. Ich stütze mich dabei sowohl auf Befunde an normalem als an pathologischem menschlichen Knochenmark.

Bei meinen Untersuchungen bin ich zu der entgegengesetzten Anschauung gekommen; ich halte die körnchenfreien Markzellen für verschieden von den Lymphocyten, für spezifische Knochenmarkselemente und möchte für sie den Namen der Myeloblasten vorschlagen, da sie wohl zweifellos und nach der Meinung aller Autoren die Vorstufen der Myelocyten und vielleicht auch anderer Markelemente sind.

Die kleinere Form der Myeloblasten (I) entspricht in der That anscheinend sehr den Lymphocyten, aber von den kleinen bis zu den doppelt und dreifach so grossen Elementen giebt es zahlreiche Uebergänge. Den Lymphocyten kommt ein derartiger Grössenwechsel nicht zu. Zwar giebt es immer auch grössere Exemplare, aber gerade diese unterscheiden sich unschwer von den Myeloblasten.

Die Zellform der Lymphocyten ist immer rund, diejenige der kleinen Myeloblasten zwar meist auch rund, bei den mittlern und grössern aber wird sie ausgesprochen rundlich oval.

Der Kern nimmt bei den kleinen Myeloblasten weitaus den grössten Theil der Zelle ein, bei den grössern schon weniger und ist dann oval, während er bei den grössern Lymphocyten stets kreisrund bleibt.

Der Chromatinreichtum des Kerns ist bei den Lymphocyten sehr bedeutend (Triacidfärbung, Methylenblaufärbung, Dahliafärbung), bei den kleinen Myeloblasten ist er zwar auch erheblich, aber, wie mir vorkommt, doch geringer. Der Lymphocytenkern erscheint ebenso dunkel wie der Kern der Normoblasten, während der Myeloblastenkern selbst bei den kleinen Formen stets weniger intensiv gefärbt wird. Bei den grössern Formen der Myeloblasten wird dieses Verhalten im Vergleich zu den grössern Lymphocyten noch viel ausgesprochener.

Die Anordnung des Chromatins ist bei den Myeloblasten eine regelmässig netzförmige, wie sie allen Knochenmarkskernen, so ganz besonders den Myelocyten zukommt, im starken Gegensatz zu den Lymphocyten, bei denen das Chromatin unregelmässig und nie netzförmig vertheilt ist. Die netzförmige Kernstruktur lässt sich auch bei den kleinen Myeloblasten, ganz evident aber dann an den grössern erkennen.

Grössere Lymphocyten lassen Nucleoli immer ohne Schwierigkeit wahrnehmen, bei keiner Myeloblastenform, überhaupt bei keiner Knochenmarkszelle ist mir dies je vorgekommen.

Histochemisch erweist sich das Protoplasma bei Myeloblasten und Lymphocyten als basophil (Jodeosin, Methylenblau, Methylgrün-Pyroninfärbung, Dahliafärbung). Dabei ergeben sich bei der Methylenblaufärbung wesentliche Differenzen zwischen Lymphocyten und Myeloblasten.

Bei den kleinen Lymphocyten ist das schmale Protoplasma stärker basophil als der Kern und färbt sich intensiver, bei den kleinen Myeloblasten aber ist der Kern viel dunkler, das Protoplasma sehr schwach blau oder sehr fein netzförmig blau tingirt. Es besteht also ein wesentlicher Unterschied.

Bei den grössern Lymphocyten resultirt bei der Methylenblaufärbung im Protoplasma eine netzförmige Färbung, wobei das Netz stellenweise granulaartige Verdickungen aufweist (siehe zum Beispiel die Figuren von Rieder und bei Ehrlich, S. 46). Bei den mittlern Myeloblasten bleibt etwas derartiges entweder ganz aus, das Protoplasma ist nur schwach basophil, oder seltener sieht man eine starke aber gleichmässige Färbung. (Vorstufen neutrophiler Granulation, bei denen bekanntlich die basophile Quote vorherrscht?)

In neuester Zeit ist von Brandenburg¹⁾ ein höchst beachtenswerther Unterschied histochemischer Natur zwischen Knochenmark einerseits und Milz, Lymphdrüsen, Thymus etc. andererseits entdeckt worden. Der Autor zeigte, dass mittels Guajaktinctur am Knochenmark eine intensive Blaufärbung erzielt wird, die an Milz, Lymphdrüsen, Thymus, Leber etc. negativ ausfällt. In seiner verdienstvollen Arbeit, deren Entwicklung auf der Gerhardt'schen Klinik ich mitbeobachten durfte, zeigt Brandenburg, dass aller Wahrscheinlichkeit nach die Reaction an die Nukleoproteide der Knochenmarkszellen und ihrer Abkömmlinge (Leukocyten) gebunden ist, indem die chemisch dargestellten Nukleoproteide dieser Elemente die Reaction intensiv geben, nicht aber die Nukleoproteinsubstanzen des lymphatischen Apparates oder anderer Gewebe. Leider ist es bisher nicht gelungen, die Reaction auch mikroskopisch zu verwerthen. Dass sie aber mit Wahrscheinlichkeit nicht auf die Myelocyten allein zu beziehen ist, sondern den Myeloblasten ebenfalls zukommt, scheint mir daraus hervorzugehen, dass ich die Blaufärbung bei einer perniciosen Anämie, deren Mark höchstens 5% Myelocyten und über 90% Myeloblasten enthielt, enorm stark erzielte, eher stärker als mit gewöhnlichem rothen Knochenmark. Damit wäre ein weiterer Unterschied zwischen Lymphocyten und Myeloblasten gewonnen.

Es verlangen ferner biologische Momente mit aller Entschiedenheit eine Trennung der Myeloblasten von den Zellen des lymphatischen Apparates.

Pappenheim und Arnold sind Anhänger der Ansicht, dass aus den kleinen ungranulirten lymphocytenähnlichen Knochenmarkszellen die Myelocyten und anderen grossen „reifen“ Formen hervorgehen. Ich kann mich dieser Theorie nur anschliessen. Pappenheim steht sogar nicht an, selbst die Erythrocyten aus diesen Gebilden entstehen zu lassen. Wenn den Myeloblasten aber derartige Fähigkeiten innewohnen, dann müssen sie durchaus andere Elemente sein als die Lymphocyten, für welche derartige Potenzen absolut abzulehnen sind. Ehrlich²⁾, sonst der entschiedenste Gegner jener Autoren, die aus den Lymphocyten so ohne weiteres alle anderen Blutzellen hervorgehen lassen, glaubt eine Ausnahme zulassen zu müssen für jenen Jaffa-Fränkelschen Befund von Myelocyten, die die genannten Autoren auf Abstrichpräparaten von Lymphdrüsen bei Scharlach, sonst bei keiner andern Krankheit erhielten. Die Annahme, dass hier Myelocyten aus Lymphocyten hervorgegangen seien, ist indessen nicht haltbar. Beim Scharlach findet man im Verlauf der Krankheit regelmässig (eigene Beobachtungen) Myelocyten im Blute, die in einem meiner Fälle 3% der Leukocyten ausmachten. Unter diesen Umständen ist es durchaus begreiflich, dass auf Abstrichpräparaten von Lymphdrüsen mit dem Blute vereinzelt Myelocyten erhalten werden.

Endlich sprechen zahlreiche klinische Erfahrungen gegen die Auffassung der kleinen Myeloblasten als Lymphocyten. Davon will ich nur ein Beispiel anführen: Das rothe Femurmark der perniciosen Anämie ist ein myeloblastisches Mark. Seine weissen Zellen sind zu 90—95% Myeloblasten, und zwar zumeist der kleinen Form. Indem ich diese Thatsache feststelle, glaube ich, einen neuen und wichtigen Beweis für die Richtigkeit der Ehrlich'schen Theorie beigebracht zu haben. nach der es sich bei der Biermer'schen Anämie um einen Rückschlag der Blutbildung ins Embryonale handelt. Pappenheim hat uns ja gezeigt, wie das Mark der niederen Säuger- und der Kaninchenembryonen aus

¹⁾ Brandenburg, Ueber die Reaction der Leukocyten auf die Guajaktinctur. Münchner medicinische Wochenschrift 1900, No. 6.

²⁾ Ehrlich, l. c. S. 74.

solchen kleinen granulafreien Zellen, eben den Myeloblasten, besteht. Es stehen also im Mark der perniciosen Anämie nicht nur die rothen, sondern auch die weissen Knochenmarkszellen auf einer embryonalen Stufe. Wären nun aber diese Myeloblasten keine tiefstehenden Knochenmarkszellen, sondern gemeine Lymphocyten, so sollte man wie bei Lymphomen eine Vermehrung derselben im Blute erwarten. Es verhalten sich aber bei pernicioser Anämie trotz sehr erheblichen Sinkens der neutrophilen Leukocyten die Lymphocyten sehr lange normal (Bild einer einseitigen Funktionsstörung des Knochenmarks bei normaler Function des lymphatischen Apparates), und erst in den Endstadien tritt, anscheinend auf der Basis der Kachexie, nun auch eine Verminderung der Lymphocyten auf (kachektische Funktionsstörung des lymphatischen Apparates).

Sind die Myeloblasten typische Knochenmarkszellen, so werden sie wohl auch wie andere Knochenmarkszellen ins Blut übergehen, Myeloblasthämie.

Für die grössere Form mit grossem, blassem, netzförmigem Kern ist dies mit Leichtigkeit nachzuweisen. Ich treffe sie bei jeder myelogenen Leukämie, besonders in den späteren Stadien, wo sie geradezu die Mehrzahl der weissen Blutzellen ausmachen können, so dass es fast unbegreiflich erscheint, wie sie bisher der Beobachtung sich fast entzogen haben.

Ein Uebertreten der kleinen Form ins Blut ist schwieriger festzustellen, von mir bisher bei Leukämie, Typhus und pernicioser Anämie beobachtet. Es scheint indessen, dass diese noch tiefer von den Myelocyten entfernten Knochenmarkszellen seltener als die grössere Form auftreten.

Wenn ich hier nochmals kurz die Myeloblasten charakterisiren soll, so sind sie granulafreie Knochenmarkszellen mit netzförmig gebautem Kern, der keine Nucleoli besitzt, sich stärker basophil verhält als das Protoplasma. Die Grösse der Myeloblasten schwankt von Lymphocytengrösse (und dann Lymphocyten sehr ähnlich) bis zur Myelocytengrösse (dann von Myelocyten nur durch die völlige Abwesenheit von Granula verschieden). Die kleinere Form hat rundliche, chromatinreichere Kerne, die grössere relativ grosse ovale Kerne bei reichlicherem Protoplasma. Die Myeloblasten sind die phylogenetisch und ontogenetisch alte Stammform der Knochenmarkszellen; sie bleiben wohl auch bei Erwachsenen die Vorstufen der Myelocyten. Sie spielen eine Rolle in der Pathologie des Knochenmarks, indem sie dominirend auftreten bei pernicioser Anämie (Rückschlag der Blutbildung ins Embryonale, megaloblastisches und myeloblastisches Mark), beim Typhus (Functionslähmung des Knochenmarks), bei myelogenen Leukämieen. Geringgradig vermehrt sind sie bei manchen anderen Krankheiten, besonders bei secundären Anämieen (Carcinom, Tuberkulose). Die Myeloblasten können ins Blut übertreten und finden sich bei myelogenen Leukämieen darin in grosser Menge.