

Myokardinfarkten transfundiert, so ist der Venendruck sorgfältig zu beobachten und bei der Entwicklung einer Herzinsuffizienz Digitalis oder Strophanthin zu geben.

Bei Vasomotorenkollapsen ist eine entschiedene Polypragmasie am Platze. Neben der Anwendung der intensivst wirkenden Analeptica wie Veritol oder Noradrenalin empfiehlt es sich hier auch, die Erregbarkeit der Zentren durch Cardiazol oder Coramin, sowie durch intermittierende Einatmung von CO₂ zu steigern. In einfacher Form kann der periphere Kreislauf auch durch das feste Einwickeln der Extremitäten beeinflußt werden.

Alle Formen der Gefäßinsuffizienz stellen an sich keine Indikation für die Anwendung von Digitalis oder Strophanthin dar. Die durch die meisten Digitalisglykoside und durch Strophanthin bewirkte akute Verkleinerung der aktiven Blutmenge kann hier sogar schaden. Besteht bei einer Minusdekompensation aus kardialen Gründen (z. B. Flimmerarrhythmie) eine relative Indikation für die Anwendung der Digitalis, so sind nach Möglichkeit solche Digitalisglykoside anzuwenden, die, wie ZISSLER für das Cedilanid gezeigt hat, nicht unmittelbar akut die aktive Blutmenge verkleinern. Bei Myokardinfarkten ist Digitalis oder Strophanthin nur angebracht, wenn eine durch die Venendrucksteigerung oder ein Asthma cardiale erkennbare echte Herzinsuffizienz komplizierend hinzutritt. Bei allen Minusdekompensationen und Myokardinfarkten darf Digitalis oder Strophanthin nur gleichzeitig mit einer ausreichenden Behandlung der Kreislaufperipherie angewendet werden.

Zusammenfassung. Die Herzinsuffizienz ist gekennzeichnet durch ein Mißverhältnis von diastolischem venösem Angebot und systolischer Förderleistung des Herzens. Die aktive Blutmenge ist im Verhältnis zum Herzminutenvolumen zu groß. Als Gefäßinsuffizienz werden demgegenüber alle Zustände zusammengefaßt, bei denen die aktive Blutmenge vermindert oder, seltener, nur im Verhältnis zur Kapazität des Gefäßsystems zu klein ist.

Drei Formen der Gefäßinsuffizienz lassen sich unterscheiden:

1. die einfache oligämische Gefäßinsuffizienz mit Verminderung der aktiven Blutmenge ohne Veränderung der Relation Erythrocyten zu Plasma,
2. das Schocksyndrom mit Hämokonzentration,

3. der Vasomotorenkollaps, gekennzeichnet durch die tiefe Senkung des arteriellen Blutdrucks.

Für die verschiedenen Formen der Gefäßinsuffizienz werden Beispiele angeführt: das orthostatische Syndrom und der orthostatische Kollaps, postoperative und postinfektiöse Gefäßinsuffizienzen, Schocksyndrome und Kollapse, das Schocksyndrom nach großen intestinalen Blutungen, die Minusdekompensation bei Patienten mit Vitien, Hypertonie und Cor pulmonale, Minusdekompensation und Schocksyndrome nach Myokardinfarkt.

Literatur. BRADBURY u. EGGLESTON: Amer. Heart J. 1, 73 (1926). — BROEMSER u. RANKE: Z. Biol. 90, 467 (1930). — CLEMMESSEN: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 60, 286 (1954). — DEGWITZ, ZISSLER u. ZISSLER: Z. klin. Med. 148, 288 (1951). — ELLIS, LAURENCE and HAYNES: Arch. Int. Med. 58, 773 (1936). — FISHBERG, HITZIG and KING: Arch. Int. Med. 54, 997 (1934). — FREIS, SCHNAPER, JOHNSON and SCHREINER: J. Clin. Invest. 31, 131 (1952). — GIBSON u. EVANS: J. Clin. Invest. 16, 851 (1936). — GOLDBLOOM and LIBIN: Arch. Int. Med. 55, 484 (1935). — HAUSS, TIETZE u. FALK: Z. Kreislauforsch. 34, 335 (1942). — KAPLAN, PUESTOW, BAKER and KRUGER: Amer. Heart J. 47, 824 (1954). — McMICHAEL: Schweiz. med. Wschr. 1946, 851. — Amer. J. Med. 6, 651 (1949). — Brit. Med. J. 11, 927 (1948). — MENEELY u. KALTREIDER: J. Clin. Invest. 22, 521 (1943). — MOELLER: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 60, 716 (1954). — MORITZ u. v. TABORA: Arch. klin. Med. 98, 475 (1910). — NYLIN and HEDLUND: Amer. Heart J. 33, 771 (1947). — PARR: Z. klin. Med. 147, 261 (1950); 148, 567 (1951); 151, 232, 242 (1954). — PARR u. WILLE: Klin. Wschr. 1951, 506. — PRENTICE, BERLIN, HYDE, LAWRENCE and PORT: J. Clin. Invest. 30, 1471 (1951). — REILLY, FRENCH, LAU, SCOTT and WHITE: Circulation (New York) 9, 571 (1954). — ROMBERG u. PÄSSLER: Dtsch. Arch. klin. Med. 64, 652 (1899). — SCHELLONG: Regulationsprüfung des Kreislaufs. Dresden 1938. — SCHMERT: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 204, 473 (1947). — Z. klin. Med. 145, 1 (1949). — SCHNEIDER: Z. klin. Med. 151, 254, 275 (1954). — SCHREIBER, BAUMAN, YALOW and BERSON: J. Clin. Invest. 33, 578 (1954). — SMITH, HOMER, W.: The Kidney, Monogr. New York 1951. — STARLING: Lancet 1897, 569. — WEISS, WILKINS and HAYNES: J. Clin. Invest. 16, 73 (1937). — WINTERNITZ, DEUTSCH u. BRÜLL: Med. Klin. 1931, 986; 1932, 1831. — WOLLHEIM: Klin. Wschr. 1927, 2134; 1928, 1261; 1933, 12. — Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 40, 389 (1928); 41, 353 (1929). — Z. klin. Med. 116, 269 (1931). — Dtsch. med. Wschr. 1930, 556; 1931, 617; 1932, 1151. — La vie med. 1937, 819. — Verh. dtsh. Ges. Kreislauforsch. 16, 75 (1950). — Cardiologia (Basel) 20, 327 (1952). — WOLLHEIM u. LANGE: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 1931, 134. — WOLLHEIM u. SCHNEIDER: C. R. III. Congr. Soc. Europ. Hémat. Rom 1952, S. 27. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 60, 33 (1954). — WOLLHEIM, SCHNEIDER, ZISSLER u. EIFERT: Cardiologia (Basel) 21, 320 (1952). — ZISSLER: Arch. Kreislauforsch. 22, 97 (1955). — ZISSLER, ZISSLER u. SCHNEIDER: Z. klin. Med. 149, 445 (1952).

DAS RETICULOCYTVOLUMEN.

Von

HEINZ WEICKER und HELMUT FICHSSEL.

Aus der Luisenheilanstalt (Universitäts-Kinderklinik) Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. PH. BAMBERGER).

1881 entdeckte PAUL EHRLICH bei Färbeversuchen mit einer gesättigten Methylenblaulösung die Reticulocyten. Er faßte diese Zellen mit den „feinen, dichten und eleganten“ Netzen als Degenerationsformen der Erythrocyten auf. 1891 zog THEOBALD SMITH infolge exakter Studien des peripheren Blutes perniziöser Anämien den Schluß, daß die gleichen Reticulocyten nicht *De-* sondern *Regenerations*formen und damit jugendliche Elemente der roten Blutkörperchen seien. Seine Auffassung setzte sich durch und wurde mehrfach bewiesen. Heute ist es jedem Hämatologen selbstverständlich, daß die Reticulo-

cyten die unmittelbaren Vorläufer der Erythrocyten und damit die unmittelbaren Abkömmlinge der Erythroblasten sind. Allerdings herrscht keine völlige Einigkeit darüber, ob das Reticulocytenstadium des Erythrocyten obligat ist oder ob es nur fakultativ unter bestimmten Regenerationsbedingungen durchlaufen wird. Aber unabhängig von unserer Einstellung zu dieser biologisch so wichtigen Frage sehen wir im erhöhten Reticulocytenprozentsatz ein klinisch verwertbares Regenerationsphänomen der Erythropoese. Ist dies — quantitativ — berechtigt?

Da wir die Reticulocyten im allgemeinen als Relation zu den Erythrocyten, d. h. als Reticulocytenprozentsatz erfassen, erhebt sich naturgemäß die Frage, ob diese Relation überhaupt etwas über die Markerythropoese aussagen kann, die ja in ihr quantitativ gar nicht repräsentiert ist. Die metrische Analyse der Erythroblasten sowohl des normalen wie des pathologischen Marks hatte uns die Reifungs- und Teilungsgesetze der Erythroblasten ableiten lassen [WEICKER (1) bis (5)]. Ein unmittelbarer Bezug zu den Erythrocyten ergab sich zunächst nicht. Sind aber die Reticulocyten tatsächlich die unmittelbaren Abkömmlinge der reifen Erythroblasten, nach der metrischen Nomenklatur der $K^{1/8}$ -Erythroblasten, so muß zwischen diesen $K^{1/8}$ -Zellen und den Reticulocyten eine feste quantitative Relation bestehen. Besteht aber diese, so würde die Erfassung des Reticulocytenprozentsatzes und besser noch die der absoluten Reticulocytenzahl tatsächlich zwangsläufig etwas über das quantitative Vorkommen der reifsten Erythroblastenklasse aussagen — und damit etwas Quantitatives über den Regenerationsprozeß.

Quantitativ heißt aber nicht nur mengen- sondern ebenso volumenmäßig und zeitlich. Nur wenn es uns gelingt, die Maß-, Mengen- und Zeitrelationen zwischen Erythroblasten und Reticulocyten einerseits, Reticulocyten und Erythrocyten andererseits aufzudecken, können wir bindende Aussagen über die Entstehung der Erythrocyten erwarten. Da es unwahrscheinlich ist, daß der enorme Zellbildungsprozeß der Erythropoese — rund 200×10^9 rote Blutkörperchen pro die — gesetzlos abläuft, dürfte nur das Wissen um die quantitativen Fakten und Relationen ihrer Glieder Basis unserer Vorstellung von ihrem Ablauf sein. Das ist aber bisher nur ganz unzureichend der Fall.

Die *Mengenrelationen* scheinen nach den gültigen Vorstellungen völlig klar zu liegen. Einem reifen Erythroblasten, also einem $K^{1/8}$ -Erythroblasten entspricht ein Reticulocyt und diesem ein Erythrocyt.

Schwieriger ist schon die Frage der *zeitlichen Relationen*. Die Lebensdauer eines $K^{1/8}$ -Erythroblasten beträgt wie die Generationszeit eines jeden anderen Erythroblasten im Durchschnitt rund 24 Std [WEICKER (3)]. Die Lebensdauer bzw. die Reifungszeit des Reticulocyten wird sehr verschieden angegeben, so von BAAR-LLOYD mit 7, von RUHENSTROTH-BAUER mit 8, von SENO mit 17 und von NIZET mit 35 Std. MORAWITZ-DENCKE und HELMEYER-WESTHÄUSER beobachteten in vitro 1—2 Tage, RIDDLE 2—4 Tage, PEPPER rund 3 Tage. Die Versuche von HEATH-DALAND, die unserer Meinung nach am ehesten als physiologisch zu bezeichnen sind, ergaben 4—6 Tage, die schönen Transfusionsversuche von YOUNG-LAWRENCE 5—6 Tage und die Benzolintoxikationsversuche von NINNI mehr als 4 Tage. COHN-MINOT-ALLES-SALTER schlossen auf Grund einer biologischen Analyse der Reticulocytenkrise sogar auf eine Reticulocytenlebensdauer von 5—10 Tagen. Die Lebensspanne der Erythrocyten schließlich beträgt 120—130 Tage (ASHBY, HELMEYER, SHEMA-RITTENBERG).

Die starken Differenzen zwischen den mitgeteilten Reticulocytenreifungszeiten beruhen teils auf der Verschiedenheit der den Berechnungen zugrunde liegenden Experimente, teils auf einer unterschiedlichen Auffassung des „Reifungszeit“-Begriffs. Bald ist die durchschnittliche Verweildauer der Reticulocyten im peripheren Blut, bald die Spanne von der Normoblastenentkernung bis zum Verlust der Substantia reticulofilamentosa gemeint. Nur diese Zeit interessiert uns hier. Daß die Reticulocyten einen erheblichen Teil ihrer Existenz in den Marksinusoiden verbringen, beweisen die mit guter Technik (wenig Blut!) gewonnenen hohen Reticulocytenprozentsätze des Marks [DAMESHEK-VALENTINE, BURGIO-CARACCI, WEICKER (1)].

Zeiten unter 48—60 Std lassen sich durch eine einfache Klärung der quantitativen Reticulocytenrelationen während einer starken Krise als unwahrscheinlich erkennen: Addiert man die absoluten Reticulocytenwertes aller Krisentage und vergleicht sie mit den nach der Krise neugebildeten, bzw. überhaupt vorhandenen Erythrocyten, so findet man 2 bis gut $2\frac{1}{2}$ mal so hohe Reticulo- wie Erythrocytenwerte. Das heißt, wir müssen eine Reticulocytenlebensdauer von mindestens $2\frac{1}{2}$ Tagen annehmen, um diese Diskrepanz erklären zu können. Diese Rechnung setzt sogar noch voraus, daß während einer starken Krise alle Reticulocyten sofort ins periphere

Blut ausgeschwemmt werden. Für die Richtigkeit dieser Annahme sprechen ad 1 die enorme Linksverschiebung der Reticulocyten und ad 2 das fehlende Gefälle von Zahl und Reife zwischen den Mark- und den Blutreticulocyten zu eben dieser Zeit.

Bezüglich der *Volumenrelationen* wissen wir fast gar nichts. Bei den $K^{1/8}$ -Erythroblasten sind wir auf Werte angewiesen, die sich aus Durchmesser-Doppelbestimmungen giemsaefärbter Präparate unter der Annahme einer Kugeligkeit der Zellen und ihrer Kerne errechnen. Danach beträgt das Kernvolumen bei einem Durchmesser des $K^{1/8}$ -Erythroblastenkerns von $5,2 \mu$ reichlich $70 \mu^3$. Der Zelldurchmesser beträgt mindestens $8,7 \mu$, dementsprechend das Zellvolumen rund $340 \mu^3$. Daraus resultiert ein Plasmavolumenwert von rund $270 \mu^3$. Das Volumen eines menschlichen Reticulocyten wird nur ein einziges Mal in der hämatologischen Literatur erwähnt und überschlagsmäßig errechnet. WINTROBE, der 1943 wie 3 Jahre vorher BRUGSCH beobachtet hatte, daß während der Reticulocytenkrise der mittlere Erythrocytenvolumenwert etwa parallel mit dem Reticulocytenprozentsatz ansteigt, schloß auf Grund der von PERSONS errechneten Reticulocyten-Erythrocyten-Durchmesserrelation von 1,1—1,15, und unter der Annahme, daß der Reticulocyt ein kurzes Zylinderscheibchen sei wie der Erythrocyt, auf einen $25 \mu^3$ über dem Erythrocytenvolumen liegenden Reticulocytenvolumenwert — also auf rund $110 \mu^3$. — Für den Erythrocyten des Erwachsenen werden Werte zwischen 80 und $90 \mu^3$, im allgemeinen rund $85 \mu^3$ als Normvolumen angegeben.

Gälte nun wirklich die allgemein anerkannte Erythrocytenbildungshypothese: 1 Erythroblast — 1 Reticulocyt — 1 Erythrocyt, so resultierten aus ihr unter Berücksichtigung der eben angegebenen quantitativen Relationen folgende Probleme:

1. Wie soll der $340 \mu^3$ große Erythroblast oder das $270 \mu^3$ große Erythroblastenplasma in den angeblich $110 \mu^3$ großen Reticulocyten übergehen?

2. Wie soll sich dieses Reticulocytenvolumen von $110 \mu^3$ auf das normale Erythrocytenvolumen von rund $85 \mu^3$ reduzieren?

Der Erythroblastenvolumenwert kann falsch sein. Alle aus gefärbten Präparaten gewonnenen Erythroblastenmaße sind primär nur als Relationen zu bewerten. Jeder Wechsel der Fixierungs- und der Färbbedingungen bringt nachweisbar eine Änderung der Durchmesser- und damit der Volumenwerte mit sich. Der Erythrocytenvolumenwert kann als richtig anerkannt werden. Der Reticulocytenvolumenwert schließlich muß überhaupt erst einmal bestimmt werden; denn die WINTROBESCHEN Berechnungen fußen bezüglich der Reticulocytenform auf einer reinen Vermutung.

Schon hier kann man sich fragen, ob eine der Varianten der Erythrocyten-Bildungshypothese — soweit sie überhaupt die Abstammung der Erythrocyten von den Erythroblasten anerkennt — eine sinnvolle Erklärung für die augenscheinlichen Volumendiskrepanzen geben könnte. FORSELL, JONES, SCHILLING sowie YOUNG und LAWRENCE halten es für wahrscheinlich, daß ein Teil der Erythrocyten unmittelbar aus den Erythroblasten entsteht. Andere Autoren zweifeln zwar nicht daran, daß alle Erythrocyten das Reticulocystenstadium durchlaufen, sie halten es aber für möglich oder sogar wahrscheinlich, daß die Ausschwemmung der Erythrocyten zu einem gewissen Teil erst nach der Entreticulierung der Reticulocyten im Mark erfolgt. Beide Hypothesen bieten keine Erleichterung bezüglich der von uns aufgeworfenen Problematik. Im Falle einer sich teilweise im Mark abspielenden totalen Ausreifung ändert sich nichts. Dagegen wird das Problem des Volumenübergangs vom $K^{1/8}$ -Erythroblasten zum Erythrocyten durch den Wegfall der Reticulocytenzwischenstufe nicht beseitigt, sondern verschärft. Es sei denn, man wolle mit LISA BOSTROEM und C. M. PLUM die Entstehung der Erythrocyten in einer dauernden Plasmaabschnürung der reifen Erythroblasten sehen. Gegen diese Annahme spricht aber ganz eindeutig sowohl die Kernvolumenverteilung wie der Kernplasmarelationstrend der Erythroblasten. Schließlich wäre

noch denkbar, daß die sich leicht basophil anfärbbaren Reticulocyten aus der vorletzten Erythroblastengeneration, den noch polychromatischen $K^{1/4}$ -Erythroblasten entstehen und die Erythrocyten aus den $K^{1/8}$ -Zellen. Aber auch diese Vorstellung würde keine Erleichterung der Problematik mit sich bringen; Zell- und Plasmavolumen der $K^{1/4}$ -Erythroblasten sind noch größer als die gleichen Werte der $K^{1/8}$ -Erythroblasten — und so bestünde neben der Frage der Volumendiskrepanz zwischen dem Erythroblastenplasma der $K^{1/8}$ -Zelle und dem Erythrocyten die zwischen dem $K^{1/4}$ -Erythroblastenplasma und dem Reticulocyten.

Schon diese wenigen Überlegungen zeigen eindeutig, daß die uns geläufige Vorstellung von der Entstehung der Erythrocyten erhebliche Lücken aufweist. Besonders wichtig schien uns die Klärung der Frage des realen Reticulocytenvolumens zu sein.

Im Zusammenhang mit der Errechnung des quantitativen Gleichgewichts der Erythropoese haben wir

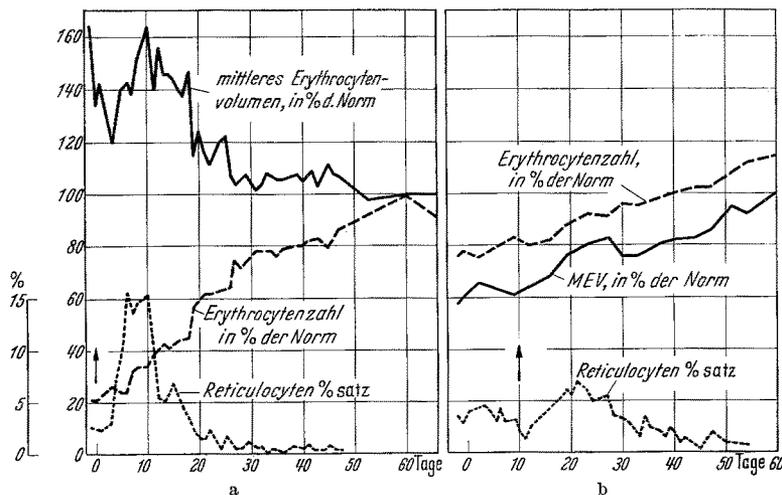


Abb. 1a u. b. Die Beeinflussung des mittleren Erythrocytenvolumens durch den Reticulocytenprozentsatz (nach WINTROBE); a bei einer perniziösen; b bei einer Eisenmangelanämie.

kurz angedeutet, daß es möglich ist, das Einzelreticulocytenvolumen, selbstverständlich das durchschnittliche Volumen der Reticulocyten, unmittelbar aus dem Reticulocytenprozentsatz und dem mittleren Erythrocytenvolumen (MEV) zu berechnen [WEICKER (1)]. Für diese Berechnung gibt es mehrere, im Prinzip ineinander ähnliche Wege.

Den ersten Weg leiteten wir aus den graphischen Darstellungen WINTROBES ab (s. Abb. 1a und b). Verbindet man in den beiden Skizzen Ausgangs- und Endpunkt der durch die Reticulocytenkrise bedingten vorübergehenden Kurvenveränderung der MEV-Werte, so zeigt sich, daß diese Verbindungslinie ihre Fortsetzung im Kurvenverlauf der darauffolgenden Phase findet. Bei der Perniciosa führt diese Linie zu einer kontinuierlichen Verkleinerung, bei der Eisenmangelanämie zu einer adäquaten, langsamen Vergrößerung des MEV. Man kann also annehmen, daß diese Linie in toto die therapeutisch bedingte Veränderung des MEV von den primär pathologischen Volumenwerten in Richtung der Norm wiedergibt.

Wählen wir nun auf dieser Linie unter der maximalen Erhöhung des MEV einen Basispunkt (VB), so steht dieser gleichzeitig über dem Gipfelwert der Reticulocytenkrise. Da sowohl die Erythrocytenzahl wie der Hämatokritwert zu diesem Zeitpunkt den Reticulocytenanteil integrieren, ergibt sich für den Augenblick des Krisenmaximum folgende Gleichung:

$$(Erythrocytenzahl EZ - Reticulocytenzahl RZ) \times Basisvolumen VB + Reticulocytenzahl RZ \times Reticulocytenuvolumen VR = Erythrocytenzahl EZ \times Maximalvolumen VM \text{ oder einfach}$$

$$(EZ - RZ) \times VB + RZ \times VR = EZ \times VM. \quad (1)$$

Nach der einzigen Unbekannten, dem von uns gesuchten Reticulocytenuvolumenwert aufgelöst, heißt die Gleichung

$$VR = \frac{EZ \times VM - (EZ - RZ) \times VB}{RZ} \quad (2)$$

bzw. vereinfacht

$$VR = \frac{EZ}{RZ} (VM - VB) + VB. \quad (3)$$

Für die Perniciosa des WINTROBESchen Schemas errechnet sich aus dieser Gleichung

$$VR = \frac{1,5}{0,25} (136 - 102) + 102 = 306 \mu^3,$$

für die Eisenmangelanämie ganz analog

$$VR = \frac{4,5}{0,2} (68 - 57,4) + 57,4 = 293 \mu^3.$$

An diesem Ergebnis überraschen 2 Dinge: einmal die relativ gute Übereinstimmung für die Berechnung des Einzelreticulocytenuvolumens von rund $300 \mu^3$, und dann der, verglichen mit dem Einzelerythrocytenvolumen hohe Volumenwert der Reticulocyten. Er wäre unglaublich, wenn man von der von WINTROBE stillschweigend anerkannten Hypothese ausgehen müßte, daß der Reticulocyt dem Erythrocyten an Form gleicht oder ähnelt. Er ist es nicht, wenn wir daran denken, daß uns die Volumenberechnungen des $K^{1/8}$ -Normoblasten in eine vergleichbare Größenordnung geführt hatten, rund $340 \mu^3$ für die Zelle und rund $270 \mu^3$ für das Plasma. Dieser Berechnung lag der für die $K^{1/8}$ -Generation durchschnittliche Kern-Plasmarelationswert von 0,6 zugrunde. Nehmen wir statt dieses Durchschnittswertes den biologisch wichtigeren Endwert von 0,575, so errechnet sich ein Plasmavolumen von rund $310 \mu^3$. Diese Übereinstimmung ist selbst bei Berücksichtigung der beiden Berechnungsarten anhaftenden Relativität überraschend.

Hat man nicht die Möglichkeit, durch tägliche Kontrollen den Gesamtverlauf der Erythrocyten-, Reticulocyten- und MEV-Kurven zu verfolgen, so kann man einen Anhaltspunkt für die Reticulocytengröße durch den Vergleich zweier Tageswerte der Erythro- und Reticulocyten sowie des MEV erhalten, indem man folgenden Rechenansatz durchführt:

Man multipliziert die reine Erythrocytenzahl (Erythrocytengesamtzahl EZ — Reticulocytenzahl RZ) eines Tages am Anfang der Reticulocytenkrise mit dem durchschnittlichen Erythrocytenvolumen vor Krisenbeginn (VO) und setzt dieses Produkt gleich der Differenz zwischen den Produkten von Zahl und Volumen der Gesamterythrocyten des Krisentages ($EZ \times VM$) und Zahl und Volumen der Reticulocyten des gleichen Zeitpunktes ($RZ \times VR$). In der vereinfachten Form heißt das

$$(EZ - RZ) \times VO = EZ \times VM - RZ \times VR, \quad (4)$$

oder, wiederum nach dem gesuchten VR aufgelöst,

$$VR = \frac{EZ \times VM - (EZ - RZ) \times VO}{RZ} \quad (5)$$

bzw. vereinfacht

$$VR = \frac{EZ}{RZ} (VM - VO) + VO. \quad (6)$$

In diesen Gleichungen ist also lediglich der exaktere MEV-Basiswert durch den etwas willkürlicheren MEV-Ausgangswert VO ersetzt.

Mit diesem Ansatz haben wir die Erythrocytenvolumenverschiebungen von COTTI-CIBOLDI überprüft, weil die auf den Zeitablauf bezogen relativ spärlichen Daten es nicht gestatten, für die Gesamt-

¹ Zur Rechenvereinfachung und, um kleinere statistische Fehler zu erhalten, ist es gut, an Stelle des Quotienten $\frac{EZ}{RZ}$ einfach $\frac{100}{Reti\%}$ zu setzen.

Volumenverschiebung eine Basislinie zu konstruieren. Für ihren Fall 9 berechneten wir für den 4. Tag ein Reticulocytenvolumen von $292 \mu^3$, für den 5. von $265 \mu^3$, für den 7. von $254 \mu^3$ und für den 8., den eigentlichen Krisentag wieder von $265 \mu^3$. Stichproben ergaben beim Fall 1 für den 13. Tag, bei dem das MEV des 7. Tages als VO eingesetzt wurde, $298 \mu^3$ und beim Fall 3 für den 5. Tag $266 \mu^3$. COTTI-CIBOLDIS Daten stammen durchgehend aus Reticulocytenkrisen im Ablauf der Perniciosareparation.

Daß die Reticulocyten aber nicht nur bei dieser Anämie dieses große Volumen besitzen, sondern auch beim, bzw. genauer während der Reparation nach dem Eisenmangel, zeigten wir schon am 2. Beispiel der WINTROBESchen Skizze (Abb. 1). Auch in der umfassenden Arbeit von FORSSELL über die Blutungsanämie lassen sich mehrere Fälle finden, bei denen der Autor während der Reparation gleichzeitig das Erythrocytenvolumen und den Reticulocytenprozentsatz bestimmt hat. Unter Benutzung der Formel (6) errechneten wir bei seinem Fall 40 ein durchschnittliches Reticulocytenvolumen von $290 \mu^3$ und bei seinem Fall 49 während der 2. Krise ein solches von $295 \mu^3$.

Natürlich haben wir von dem Augenblick an, wo uns das Problem des Reticulocytenvolumens klar war, auch bei eigenen Fällen reparativer Reticulocytenkrisen neben der Erythrocytenzahl und dem Reticulocytenprozentsatz das MEV bestimmt, und nach den Formeln (3) bzw. (6) das durchschnittliche Einzel-Reticulocytenvolumen berechnet. In dem verfloßenen Beobachtungszeitraum gelang es nur bei 3 Kindern derartige Berechnungen durchzuführen. Die errechneten Reticulocytenvolumina betragen: 217, 234, 222; 208, 219, 241; 232, 225 und $212 \mu^3$. Daß diese Werte alle deutlich niedriger liegen als die Durchschnittswerte der aus der Literatur errechneten, ist insofern nicht verwunderlich, als es sich bei unseren Fällen um 2 ältere Säuglinge und ein Kleinkind handelte, um Kinder also, deren durchschnittliches Erythrocytenvolumen gleichfalls wesentlich niedriger liegt als das der Erwachsenen, zwischen 70 und $75 \mu^3$.

Wir möchten betonen, daß uns Berechnungen des Reticulocytenvolumens nach den Formeln (3) bzw. (6) nur unter bestimmten Bedingungen sinnvoll erscheinen.

Ad 1 müssen die theoretischen Voraussetzungen für alle in die Formeln einzusetzenden Faktoren gegeben sein. Das heißt z. B., daß das periphere Blut sich nur aus alten, patienteneigenen Erythrocyten und neuen, eben frisch gebildeten Reticulocyten zusammensetzen darf. Das Hinzutreten einer 3. Zellpopulation, deren Menge wie Einzelzellvolumen unbekannt sind, würde jede Berechnung ad absurdum führen.

Das zeitliche Intervall, in dem uns diese Bedingung gegeben erscheint, ist identisch mit der Reticulocytenlebensdauer, gerechnet vom 1. Tag des Krisenanstiegs an. Das Verschwinden der bei Krisenbeginn ins periphere Blut ausgeschwemmten Reticulocyten muß ja eine uns bezüglich ihres Zellvolumens zur Zeit noch unbekannte 3. Erythrocytenpopulation entstehen lassen — oder, vorsichtiger ausgedrückt, läßt möglicherweise eine solche 3. Population entstehen.

Aus diesem Grund beschränkten wir uns bei den bisherigen Berechnungen stets auf den ansteigenden Schenkel der Krise. Tatsächlich läßt sich leicht beweisen, daß eine Berechnung des Reticulocytenvolumens mit Hilfe der angegebenen Formeln nach dem Krisenmaximum zu sinnlos hohen Werten führen kann.

Zu den theoretischen Voraussetzungen gehört ferner, daß der Reticulocytenprozentsatz vor Krisenbeginn nicht ins Gewicht fällt¹. Mehr als 2—3% Reticulocyten machen sich bei

der Berechnung des VO bzw. VB-Wertes störend bemerkbar. Diese Einschränkung gilt nicht, wenn man an Stelle der genannten Volumenwerte einen der Altersnorm entsprechenden MEV-Wert einsetzt.

Ad 2 sollte die Zahl der Reticulocyten während der Krise einigermaßen hohe Werte erreichen. Wenigstens 100000 Reticulocyten sollten der Berechnung zugrunde liegen, sonst besteht die Gefahr, daß die Ungenauigkeit der Reticulocytenauszählung erheblich zu- und die statistische Verwertbarkeit des Ergebnisses entsprechend abnimmt.

Ad 3 müssen die technischen Voraussetzungen gegeben sein. Nach unseren Erfahrungen würden wir eine Doppel-Hämatokritbestimmung, eine 4fach-Kammerzählung der Erythrocyten und eine Auszählung der Reticulocyten auf 4000 bis 5000 Erythrocyten für exakt halten. Wir sind uns bewußt, daß diese Bedingungen für die aus der Literatur errechneten Werte zwangsläufig nicht als gegeben erachtet werden können.

Anerkennen wir nach diesen kritischen Einschränkungen die prinzipielle Gültigkeit der Gleichungen (3) und (6) und damit die Wahrscheinlichkeit des aus ihnen errechneten Reticulocytenvolumenwertes, so ergeben sich notgedrungen wichtige Konsequenzen für die Erythrocytenbildungshypothese.

1. Der Reticulocyt könnte mit mehr Berechtigung als bisher als denukleierter Normoblast, und zwar als $K \frac{1}{8}$ -Erythroblasten-Plasma-Äquivalent, aufgefaßt werden.

2. Es entfielen die Notwendigkeit, für die mit beginnender Hämoglobinisierung des Plasmas einsetzende Kern-Plasma-Relationsverschiebung der Erythroblasten [WEICKER (2)] einen artifiziellen, durch Färbung oder Fixierung bedingten Faktor anzunehmen. Das bedeutete eine wertvolle Erleichterung für die metrische Analyse der Erythroblasten, besonders bezüglich einer Umrechnung relativer Werte in absolute.

3. Das Problem „Was geschieht mit dem relativ reichlichen Plasma der $K \frac{1}{8}$ -Erythroblasten bei der Entstehung des Reticulocyten?“ verschöbe sich in das Problem „Wie geht der dem Volumen nach etwa 3mal so große Reticulocyt in den Erythrocyten über?“

Wir hielten uns zu einer Beantwortung dieser letzten, biologisch so außerordentlich interessanten Frage nicht eher befugt, ehe wir nicht auf tierexperimentellem Wege die Richtigkeit der von uns in Überschlagsrechnungen gewonnenen Ergebnisse bestätigt fanden. Der Tierversuch war um so dringlicher erforderlich, als die klinische Beobachtung uns in den letzten beiden Jahren nur die wenigen bereits genannten Berechnungsmöglichkeiten geboten hatte. Natürlich gingen wir bei der völligen Unerforschtheit des Reticulocytenvolumenproblems das Risiko ein, ein Tier mit einer zwar prinzipiell ähnlichen, graduell aber im Vergleich zum Menschen unterschiedlichen Erythropoese auszuwählen.

Die klassischen Experimente zur Erzeugung und Auswertung von Reticulocytenkrisen bedienten sich der durch Phenylhydrazin ausgelösten Hämolyse (ISTAMANOWA; HEATH-DALAND; ADLERSBERG-GOTTSEGEN; LONG; CRUZ; GIFFIN-ALLEN; WINTROBE; RAPOPORT-GUEST-WING; LAWRASON-ELTZHOLTZ-SPE-SCHORK). Die experimentellen hämolytischen Anämien haben für uns den zusätzlichen Vorteil, daß wir es primär mit normal großen, d. h. normal-volumigen Zellen zu tun haben. Das MEV wurde bei den meisten der zitierten Arbeiten nicht berücksichtigt. Nur die beiden zuletzt genannten Autorengruppen verfolgten es gleichzeitig mit dem Reticulocytenprozentsatz. Ihre Ergebnisse sind um so interessanter.

RAPOPORT-GUEST und WING fanden beim Kaninchen zwischen dem 6. und 8. Hämolysetag Reticulocyten-Promille-sätze bis zu 1000. Gleichzeitig stieg ihr MEV-Wert von normal

$$MRV = \frac{MEV_{k_2} (100 - Reti\%_1) - MEV_{k_1} (100 - Reti\%_2)}{Reti\%_2 - Reti\%_1}$$

eine Formel, in der beide Reticulocytenwerte berücksichtigt sind, ohne daß man auf einen willkürlichen Vo- oder Vb-Wert angewiesen ist.

¹ Diese Voraussetzung entfällt, wenn man die Formeln (1) oder (4) für beide Reticulocytenwerte aufstellt, gegen Vo auflöst und dann gleichsetzt. In diesem Fall erhält man

60 auf rund $150 \mu^3$ an, so daß sie den Schluß zogen, daß die „grob reticulierten Reticulocyten 2mal so groß oder größer als die Erythrocyten sein müßten“. Weitere Konsequenzen zogen sie nicht. LAWBRASON und Mitarbeiter setzten 5 Schweine einer Maximalhämolysen von 50 Tagen aus. Die Erythrocytenzahl fiel von 7 auf 2 Mill., die Reticulocyten stiegen auf 80% an und der MEV-Wert von normaliter 60 auf rund $125 \mu^3$. Extrapoliert man auf 100%, so erhält man ebenfalls rund $150 \mu^3$ bzw. das $2\frac{1}{2}$ -fache des normalen MEV als durchschnittliches Reticulocytenvolumen. Allerdings muß man sich fragen, ob bei derartigen extremen Dauerhämolysen der Organismus noch fähig bleibt, normal große Reticulocyten zu produzieren. Die Tiere starben eins nach dem anderen.

Wir wählten 10 ausgewachsene Kaninchen. Körpergewicht 3,4–4,1 kg. Sechs Tiere erhielten an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 10 mg/kg Körpergewicht Phenylhydrazin,

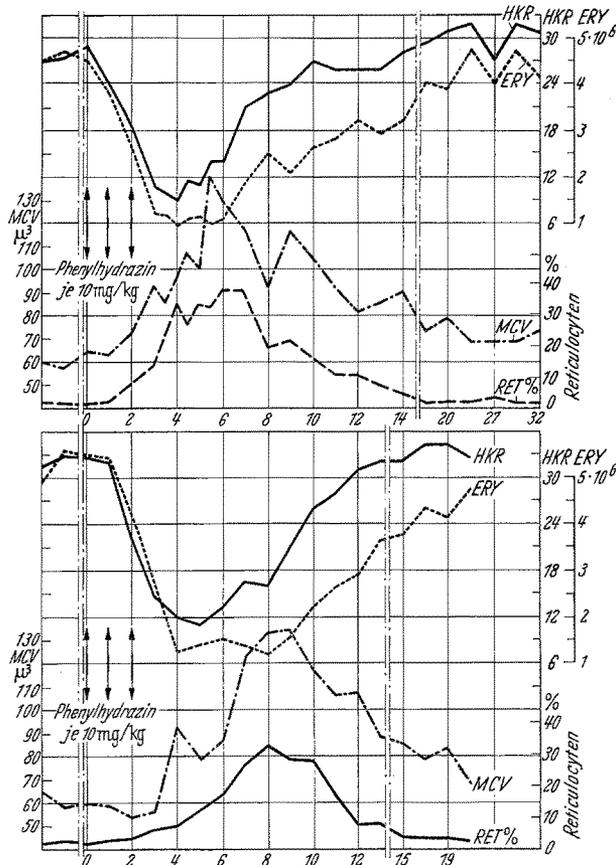


Abb. 2. Erythrocytenzahl, Hämatokritwert, Reticulocytenprozentatz und mittleres Erythrocytenvolumen während experimentell erzeugter hämolytischer Anämien beim Kaninchen. Die Abhängigkeit des MEV von der Höhe des Reticulocytenprozentatzes ist evident, aber ebenso die Verzögerung, mit der die MEV-Kurve im Vergleich zur Reticulocytenkurve zur Norm zurückkehrt.

2 Tiere die gleiche Dosis 6mal an 6 aufeinanderfolgenden Tagen. Zwei weitere Tiere wurden zur Ader gelassen. Wir entzogen dem einen in toto 130 cm^3 Blut auf 3,4 kg, dem anderen 196 cm^3 auf 4,1 kg, jeweils über 3 Tage verteilt.

Die Erythrocytenkammerzählung erfolgte 4fach, die Bestimmung der Reticulocytenzahl auf 4000 Erythrocyten, die des Hämatokritwertes nach der Methode VAN ALLEN in Doppelbestimmungen mit 3,8%igem Natriumcitrat. Die täglichen Kontrollen erfolgten so gut wie möglich zum gleichen Zeitpunkt über 2–3 Wochen, mindestens bis zum Abklingen der Krise, während der Krise über mehrere Tage 2mal täglich.

Die Erythrocytenzahl sank nach der 3tägigen Hämolysen von rund 5 auf unter 1 Mill. ab, bei der 6tägigen desgleichen, bei den beiden Aderlaßtieren auf 1,8 bzw. 1,2 Mill. Erythrocyten.

Der Hämatokritwert verminderte sich bei den kürzeren Hämolysen im großen und ganzen parallel zur Erythrocytenzahl von rund 30 auf 8–9 Vol.-%. Bei

den stärkeren Hämolysen erreichte er minimal nur 12–13 Vol.-% (!), bei den Blutungstieren 14 bzw. 11 Vol.-%.

Der Reticulocytenprozentatz stieg etwa vom 3. Tag nach Beginn der Phenylhydrazingabe rasch auf Werte zwischen 24 und 38. Bei den starken Hämolysen erreichten wir 64 bzw. 81%, bei den Aderlässen 24 bzw. 28%.

Etwa in Parallele zur Verlaufskurve des Reticulocytenprozentatzes erhob sich der MEV-Wert von normaliter rund $60 \mu^3$ auf 110–135 μ^3 , bei den stärkeren Hämolysen auf 138 bzw. 140 μ^3 und bei den Aderlaßtieren auf 90 bzw. 96 μ^3 .

Interessanter als diese allgemeinen Feststellungen sind die unmittelbaren Vergleiche der verschiedenen Verlaufskurven (Abb. 2). Bei allen 10 Tieren bestehen nicht nur die genannten auffälligen Parallelen zwischen den Werten des Hämatokrits und der Erythrocytenzahl, sowie denen des Reticulocytenprozentatzes und des mittleren Erythrocytenvolumens, sondern auch charakteristische Abweichungen von dieser Parallelität. So sinkt der Hämatokritwert prozentual nicht ganz so tief wie die Erythrocytenzahl, steigt eher als diese wieder an, hält sich während der ganzen Krise deutlich höher als die Erythrocytenzahl und erreicht 2–3 Tage vor dieser seinen Ausgangswert. — Umgekehrt steigt das MEV nahezu völlig parallel mit dem Reticulocytenprozentatz an, hat zur gleichen Zeit wie dieser sein Maximum, bleibt aber deutlich länger auf relativ höheren Werten stehen als der Reticulocytenprozentatz. — Sind die Differenzen zwischen Erythrocytenzahl und Hämatokritwert leicht durch die Tatsache der im Hämatokritwert zum Ausdruck kommenden großen Reticulocytenvolumina zu erklären, so bleibt die Frage nach der Ursache für die zwischen dem MEV-Wert und dem Reticulocytenprozentatz zu beobachtende Kurvendiskrepanz zunächst offen. Es sei darauf hingewiesen, daß die WINTROBESCHEN Kurven das gleiche Charakteristikum der um 2–3 Tage gegeneinander verschobenen Werte besitzen.

Errechnen wir aus unseren Unterlagen nach der Formel (3) das Reticulocytenvolumen, so ergibt sich für den Kaninchenreticulocyten ein Wert zwischen 180 und 210 μ^3 . Berücksichtigt man, daß das Erythrocytenvolumen des Kaninchens zwischen 60 und 65 μ^3 liegt, so ist die Volumenrelation zwischen den Reticulocyten und den Erythrocyten beim Kaninchen etwa die gleiche (180–210/60–65) wie die aus den wenigen uns zur Verfügung stehenden, bzw. von uns aus der Literatur errechneten Daten für den Menschen abzuleitende (250–310/80–90). Fragen wir uns, ob diese riesig erscheinenden Reticulocytenvolumina überhaupt mit unserer morphologischen Beobachtung in Einklang gebracht werden können, so läßt sich die Antwort wiederum am einfachsten durch eine rechnerische Ableitung der verschiedenen Maße geben:

Aus den in Tabelle 1 wiedergegebenen Maßen ergibt sich eine Reticulocytenform, wie sie die Abb. 3 zeigt. Die gewonnenen Reticulocytenvolumenwerte sind bei den allgemein bekannten Reticulocyten-Durchmesserwerten durchaus vorstellbar, allerdings vorausgesetzt, daß die Reticulocyten nicht wie die Erythrocyten beidseitig eingedellt sind, und daß sie etwa die doppelte Dicke wie diese besitzen. Daß die Delle bei den Reticulocyten tatsächlich fehlt, zeigt

nicht nur jedes giemsa- oder brillant-kresylblau-gefärbte Präparat, sondern auch das Phasenkontrastbild. Dieses läßt darüber hinaus ohne weiteres erkennen, daß die Reticulocytendicke mehr als doppelt so groß ist wie die eines Erythrocyten, wenn zufällig neben einem Reticulocyt 2 Erythrocyten übereinanderliegen.

Bei den mit der allgemeinen Erwartung in Widerspruch stehenden Ergebnissen unserer Reticulocyt-Volumenberechnungen erschien es uns notwendig, diese einer statistischen Prüfung zu unterziehen. Mit Hilfe der Korrelationsrechnung ist es verhältnismäßig einfach, die Frage der möglichen Abhängigkeit des MEV vom jeweiligen Reticulocytprozentsatz zu klären. Abb. 4 gibt auf der Abszisse den Reticulocytprozentsatz, auf der Ordinate das MEV wieder. Schon ein Blick auf die Punktwolke dieser Abbildung läßt die wahrscheinlich gute Korrelation vermuten.

Da wir bereits bei der Betrachtung der Verlaufskurven unserer Einzeltiere festgestellt hatten, daß die Kurve der MEV-Werte im 2. Teil der Reticulocytenkrisis relativ höher bleibt als die des Reticulocytprozentsatzes, werteten wir außer der Gesamtpunktwolke die sich aus den beiden Schenkeln der Reticulocytenkrisis ergebenden Punkte getrennt voneinander aus. So geben die schwarzen Kreise der Abb. 4 die Werte der auf-, die weißen der absteigenden Phase der Reticulocytenkrisis wieder.

Punktwolke wie Regressionslinie liegen beim absteigenden Schenkel der Krise eindeutig höher. Was besagt diese Diskrepanz? Entweder müssen zum Zeitpunkt des Krisenabfalls die Reticulocytvolumina größer sein als während des Krisenanstiegs, oder aber es muß ein weiterer Faktor das MEV im Abklingen der Krise beeinflussen. Daß sich das Reticulocytvolumen während der Krise vergrößert, d. h. während der Reticulocytenausreifung zunimmt, ist ganz unwahrscheinlich. Dagegen liegt es nahe, daran zu denken, daß die Reticulocyten mit dem Verlust der Substantia reticulo-filamentosa nicht notwendigerweise gleichzeitig auch ihr Volumen einbüßen müssen. Das würde bedeuten, daß wir nach dem Zeitpunkt der ersten während der Krise in Gang kommenden Entretikulierung mit dem Auftreten einer Zellgattung rechnen müssen, die dem Volumen nach Reticulocyt, der Struktur nach aber Erythrocyt ist.

Ein langsam kleiner werdender Reticulocyt oder ein primär großvolumiger Erythrocyt sind ja schon rein logisch zu erwartende Zellelemente, die uns den Übergang vom großvolumigen Reticulocyt zum kleinvolumigen Erythrocyten demonstrieren müßten. Für den Übergang selbst sind grundsätzlich 2 Wege denkbar: eine langsame Volumenreduktion infolge eines uns nicht bekannten Kondensationsprozesses oder eine uns ebenfalls nicht bekannte Teilung der kernlosen Zelle. Stimmen die Volumenrelationen von 3:1 oder auch nur von 2,5:1, so erscheint nach rein quantitativen Gesichtspunkten die Zellteilung wahrscheinlicher zu sein. Es ist auch schwer vorstellbar, daß sich im isotonischen Milieu des Blutes eine so starke Volumenreduktion, wie sie zwischen Reticulo- und Erythrocyten notwendig wäre, abspielen kann.

Wir können uns überlegen, welche Folgen die beiden verschiedenen, theoretisch möglichen Moden der Reticulocyt-Volumenverkleinerung für die zwischen dem MEV und dem Reticulocytprozentsatz beste-

hende Relation haben müßten. Im Falle einer langsamen Volumenreduktion würde das MEV immer größer, und zwar solange, bis die ersten Zellen ein

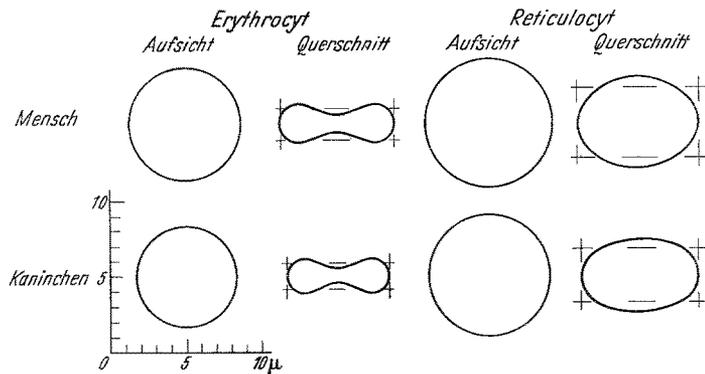


Abb. 3. Die Erythrocyten und die Reticulocyten des Menschen und des Kaninchens in der Aufsicht und im Querschnitt. Die großen Reticulocytvolumina sind vorwiegend durch die erhebliche Dicke bestimmt.

echtes Erythrocytenvolumen besäßen. Die MEV-Kurven der Abb. 2 müßten mit wachsender Tageszahl immer stärker hinter denen des Reticulocytprozentsatzes herhinken, um sich schließlich ebenso-

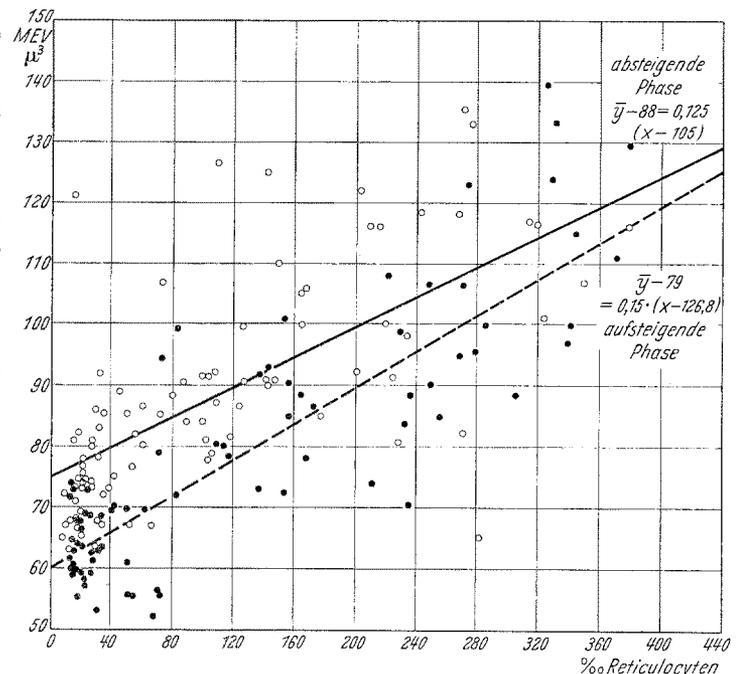


Abb. 4. Punktwolke und Regressionslinien zu der zwischen dem Reticulocytprozentsatz und dem mittleren Erythrocytenvolumen bestehenden Korrelation. Die Punktwolke ist aufgeteilt in die Wertepaare, die dem auf- (schwarz), und die dem absteigenden Schenkel der Reticulocytenkrisis entsprechen (weiß).

langsam wieder auf die Normwerte des Erythrocytenvolumens einzuspielen. Im Falle einer einmaligen Reticulocytenteilung, genauer genommen einer Teilung des seiner reticulären Substanz verlustig ge-

Tabelle 1.

	Erwachsener Mensch		Kaninchen	
	Erythrocyten	Reticulocyten	Erythrocyten	Reticulocyten
Durchmesser . . .	7,2—7,7 μ	8,0—9,0 μ	6,2—6,7 μ	7,5—9,0 μ
Volumen	80—90 μ ³	250—310 μ ³	60—65 μ ³	180—210 μ ³
Ideale Dicke . . .	1,8—2,2 μ	4,5—5,5 μ	1,7—2,1 μ	2,8—4,6 μ
Sphärischer Index	0,25—0,3	0,5—0,7	0,25—0,3	0,3—0,6

gangenen Reticulocyten, erhielten wir eine um einen oder um einige wenige Tage gegen die Reticulocyt-

prozentsatzkurve verschobene MEV-Kurve. Sie liefe im großen und ganzen mit ersterer parallel, und müßte sich wie diese rasch gegen die Basislinie des normalen

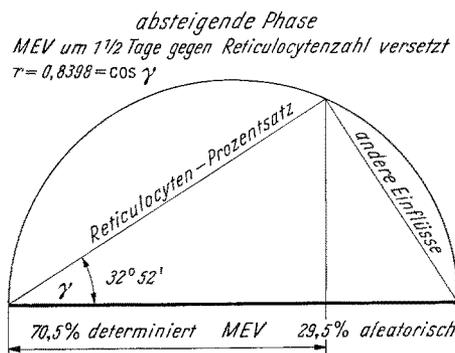
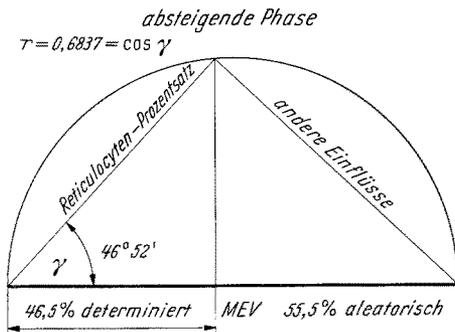
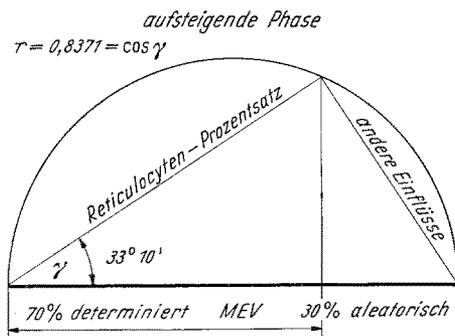
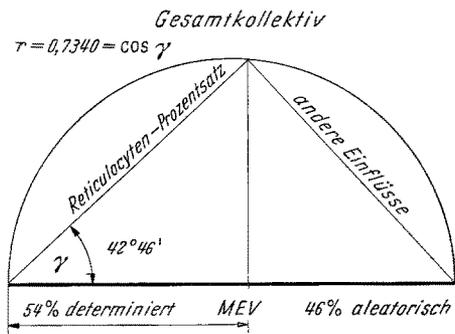


Abb. 5. Die deterministischen und die aleatorischen Komponenten, die die Abweichung des mittleren Erythrocytenvolumens (MEV) vom Normwert bestimmen. Der mit der Aufgliederung der Reticulocytenkrise in eine auf- und eine absteigende Phase sich ändernde Einfluß des Reticulocytenprozentsatzes auf das MEV wird verdeutlicht. In der absteigenden Phase kommt die stärkste Korrelation erst durch die zeitliche Versetzung der Wertepaare um 1 1/2 Tage zustande.

MEV senken. Die Abb. 2 spricht deutlich für die Gültigkeit des zuletzt genannten Modus.

Wir überlegten uns, wie wir diese hypothetische Ableitung statistisch objektivieren könnten und stießen dabei auf das von GEBELEIN und HEITTE angeführte „Lag“-Problem.

Dieses Problem ermöglicht den korrelativen Vergleich zweier Meßreihen, die bezüglich der Zeitkomponente divergieren. Das heißt, auf unser Beispiel angewandt, den Vergleich eines Reticulocytenprozentwertes mit einem MEV-Wert, der zu einem anderen Zeitpunkt gewonnen wurde. Dabei muß selbstverständlich diese willkürlich gewählte zeitliche Differenz für sämtliche Wertepaare gelten. Die verhältnismäßig umfangreiche Rechenarbeit, die mit derartigen statistischen Operationen verbunden ist, kann bei GEBELEIN-HEITTE nachgelesen werden. Man kann sie sich etwa so veranschaulichen, daß man die beiden zu vergleichenden Meßreihen nacheinander um jeweils verschiedene Zeiteinheiten gegeneinander verschiebt, und für jede Verschiebung immer wieder den Korrelationskoeffizienten berechnet, um schließlich diese Koeffizienten miteinander vergleichen zu können.

Um die Frage der Existenz der hypothetisch angenommenen Erythrocytenpopulation mit Reticulocytenuvolumen, und die Frage der zeitlichen Dauer dieser Existenz zu klären, versetzten wir die MEV-Werte der absteigenden Schenkel der von uns experimentell erzeugten Reticulocytenkrise um jeweils 1, 1 1/2 und 2 Tage gegen die Reticulocytenprozentwert. Die aus dieser statistischen Prozedur sich ergebenden Korrelationskoeffizienten geben wir, gemeinsam mit ihren Quadraten, in Tabelle 2 wieder.

Tabelle 2.

Tage (d)	Korrelationskoeffizient (r _d)	Quadratischer Korrelationskoeffizient (r _d ²)
0	0,6837	0,4678
1	0,6411	0,4110
1 1/2	0,8430	0,7106
2	0,7000	0,4900

Die Tabelle zeigt ein deutliches Maximum bei d = 1 1/2, so daß wir berechtigt sind, die bereits hypothetisch erwartete Erythrocytenpopulation mit Reticulocytenuvolumen als existent zu betrachten und zwar für eine Dauer von 1 1/2 Tagen, gerechnet vom Augenblick des Verlustes der reticulären Substanz. Dies gilt um so mehr als der Korrelationskoeffizient der Gesamtpunktwolke r = 0,7340 betrug und der der isoliert berechneten aufsteigenden Phase r = 0,8371; denn die Tatsache, daß die Korrelationen bei den getrennt und verschiedene berechneten Phasen noch stärker sind als im Gesamtkollektiv, unterstreicht die Richtigkeit der Überlegungen, die zur Trennung der beiden Phasen führten.

Zusammengefaßt heißt das: Das Reticulocytenuvolumen des Kaninchens ist rund 3mal so groß wie sein Erythrocytenvolumen. Nach dem Verlust der Substantia reticulo-filamentosa behalten die Zellen noch 1 1/2 Tage ihr Volumen bei, um es dann in einer relativ kurzen Zeitspanne, wahrscheinlich durch einen einmaligen Teilungsakt, zu verlieren.

Besonders klar läßt sich unser analytischer Gedankengang aufzeigen, wenn wir die eben genannten Korrelationswerte umrechnen und uns fragen, mit wieviel Prozent Wahrscheinlichkeit das über die Norm erhöhte MEV von der Höhe des Reticulocytenprozentsatzes abhängig ist, d. h., zu wieviel Prozent es deterministischen, und zu wieviel es andererseits aleatorischen, durch unsere Versuchsanordnung nicht zu überblickenden Faktoren unterworfen ist. Abb. 5 zeigt die Normalkorrelationen für die Gesamtkrise, für die ansteigende und die abfallende Phase und schließlich für die um 1 1/2 Tage gegeneinander versetzten Wertepaare. In der Abbildung kommt gut zum Ausdruck, wie sich die gesonderte Berechnung der beiden Krisenphasen zunächst nur für den aufsteigenden Schenkel günstig auswirkt, und wie dagegen für den absteigenden die aleatorischen Faktoren in den Vordergrund treten. Erst die mit Hilfe des Lagproblems errechneten Korrelationen der zeitlich gegeneinander verschobenen Wertepaare läßt auch für die absteigende Phase eine stärkere Korrelation finden.

Daß die Normalkorrelationen nahezu so gut sind wie die Maximalkorrelationen, ist ein Beweis dafür, daß zwischen dem Reticulocytenprozentwert und dem MEV eine lineare oder nahezu lineare Beziehung bestehen muß. Diese Beziehung wird durch die Regressionsgleichungen $y_1 - 79 = 0,15$

($x - 126,8$) für die aufsteigende Phase und $y_i - 93,5 = 0,17$ ($x - 142,4$) für die um $1\frac{1}{2}$ Tage gegeneinander versetzte Wertepaar-Korrelation der absteigenden Phase wieder gegeben.

Waren wir bei der Berechnung des idealen Reticulocytenvolumens gleichsam gezwungen, auf den 100%igen Reticulocytenwert zu extrapolieren, so scheint uns die starke Korrelation nachträglich diesen Extrapolationsschluß zu rechtfertigen. Trotzdem sind wir zur Zeit bemüht, eine Methode zu entwickeln, die es gestattet, das Reticulocytenvolumen unmittelbar zu bestimmen, und die gleichzeitig eine mögliche Volumenveränderung der Reticulo- wie der Erythrocyten durch die Citratbeimengung der Hämatokritbestimmung ausschließt (WEICKER-SCHUBERT).

Fragen wir uns nach der Bedeutung der beiden von uns errechneten Tatsachen, des etwa 3mal so großen Reticulocyten- wie Erythrocytenvolumens und der $1\frac{1}{2}$ tägigen (beim Menschen wahrscheinlich 2—3tägigen), dem Reticulocytenstadium folgenden Zeitspanne, in der wir eine Erythrocytenpopulation mit Reticulocytenvolumen aber ohne die Fähigkeit, sich durch Vitalfarbstoffe anfärben zu lassen, vor uns haben, so sehen wir diese an 2 ganz verschiedenen Punkten.

Die *klinische Bedeutung* liegt in der richtigen Einschätzung aller sog. makrocytären Anämien. Sind diese Anämien reticulocytenreich, so muß bedacht werden, wie voluminös diese Reticulocyten sind, und man muß sich darüber Klarheit verschaffen, inwieweit die großen Reticulocytenvolumina als alleinige Ursache für die vermeintliche Makrocytose in Frage kommen. Errechnen wir mit Hilfe einer der oben genannten Formeln aus dem MEV und dem Reticulocytenprozentumsatz Reticulocytenvolumina von 250 bis rund $300 \mu^3$, so können wir mit Sicherheit sagen, daß die Makrocytose eine pseudomakrocytäre Reticulocytose ist. Und selbst wenn derartige Berechnungen zu noch höheren Reticulocytenvolumenwerten führen sollten, müssen wir uns überlegen, inwieweit diese Werte durch die der Reticulocytenreifung folgende, wahrscheinlich 2—3tägige Phase der entretikulierten Reticulocyten bedingt sein könnten.

Wir denken besonders an die makrocytären hämolytischen Anämien vom Typus DYKE-YOUNG, die 20—40% Reticulocyten aufweisen können (GOLDECK-BEHNKE) und an die ebenfalls makrocytäre Anämie des Oroyafiebers (RICKETTS). So berechneten wir beispielsweise aus der RICKETTSschen Arbeit unter Berücksichtigung der 2—3tägigen Periode der entretikulierten Reticulocyten Reticulocytenvolumenwerte von 332 und $294 \mu^3$ bei Fall 1, von $224 \mu^3$ bei Fall 2 und $330 \mu^3$ bei Fall 3. Sie liegen alle noch im Streubereich der aus anderen Arbeiten errechenbaren Volumenwerte und lassen die Vermutung zu, daß die Makrocyten des Oroyafiebers nur Reticulocyten und entretikulierte Reticulocyten sind. Auch beim konstitutionellen hämolytischen Ikterus werden oft MEV-Werte von knapp und reichlich $100 \mu^3$ angegeben, wie schon von NÄGELI. Diese Werte lassen sich ohne weiteres durch Reticulocytenprozentumsätze von 5—10 erklären.

In unklaren Fällen läßt sich der Nachweis einer echten Makrocytose leicht mit Hilfe der metrischen Analyse der Markerythroblasten führen. Bei einer echten Makrocytose muß die Kern-Plasma-Relation der kleinkernigen $K \frac{1}{4}$ - und $K \frac{1}{8}$ -Erythroblasten eindeutig zugunsten des Plasmas verschoben sein; denn dann resultieren aus dem übergroßen Plasmavolumen Makroreticulocyten und schließlich Makrocyten. Ist die Kern-Plasma-Relation normal, so sind im peripheren Blut normalgroße Reticulo- und Erythrocyten zu erwarten. Fehlen aber diese Normocyten, so kann die gefundene Makrocytose nur durch echte oder entretikulerte Reticulocyten bedingt sein. Auch für die hepatogenen Makrocytosen ist ein derartiger Entstehungsmodus zu erwägen [WEICKER (5)].

Die *biologische Bedeutung* unserer Ergebnisse besteht in der Möglichkeit, auch die Reticulocyten in das quantitative Modell der Erythropoese einbeziehen zu können. Waren wir in der Lage, aus den Maß-, Mengen- und Zeitrelationen der Erythroblasten ein Modell der Markerythropoese zu konstruieren, das nicht nur den den Relationen zugrunde liegenden quantitativen Fakten gerecht wird, sondern auch die aus diesen Fakten abgeleiteten Zellteilungs- und -reifungsgesetze erkennen läßt, so bieten die analog gewonnenen Kriterien der Reticulocyten—Volumen, Reifungszeit, Mengenrelation zum Erythrocyten, entretikulerte Phase — die grundlegenden Momente für eine quantitative, und zwar maßstabsgerechte Erweiterung dieses Modells¹.

Das Plasmavolumen der reifen $K \frac{1}{8}$ -Erythroblasten liegt in der gleichen Größenordnung wie das Reticulocytenvolumen. Diese Tatsache spricht für einen substantiellen Kernverlust, also eine echte Entkernung der $K \frac{1}{8}$ -Zelle, in guter Übereinstimmung mit den wenigen Beobachtungen am überlebenden Objekt (ALBRECHT, SALTZMAN). Die Reticulocyten behalten ihr Volumen während und noch 2—3 Tage nach der Reifung bei, ein Volumen, das etwa 3mal so groß ist wie das der Erythrocyten. Der Übergang vom Reticulocyten zum Erythrocyten vollzieht sich nach quantitativen Gesichtspunkten durch einen einmaligen Teilungsakt. Obwohl diese Teilung einer kernlosen Zelle ein biologisches Unikum darstellt, gibt es genügend Kriterien, die für die Richtigkeit unserer Vorstellung sprechen.

So stellt der Entkernungsprozeß karyometrisch betrachtet ein Mitoseäquivalent dar, weil er am Ende der $K \frac{1}{8}$ -Erythroblastengeneration genau zu dem Zeitpunkt einsetzt, an dem bei den Generationen $K 2$ bis $K \frac{1}{4}$ die Mitose beginnt [WEICKER (1)]. Ein Kernteilungsäquivalent müßte aber, ebenso wie die Kernteilung selbst, einen Zellteilungsakt nach sich ziehen, und das kann sinngemäß nur die Reticulocyten-Teilung sein. Die biochemischen Voraussetzungen für diesen Teilungsakt könnten insofern gegeben sein, als der Reticulocyt die während eines Zellteilungsprozesses als aktiv bekannten Substanzen im Gegensatz zum Erythrocyten noch in sich birgt, die Ribosepolynucleotide, minimale Mengen von Desoxyribosopolynucleotiden und die Adenosintriphosphorsäure. Auch der Hämoglobingehalt der Reticulocyten ist sowohl nach vereinzelt Literaturangaben (RAPPORT-GUEST-WING) wie nach eigenen, vorerst noch informatorischen Untersuchungen erheblich größer als der der Erythrocyten, obwohl die Hämoglobinkonzentration nur etwa $\frac{2}{3}$ der der Erythrocyten beträgt. Nur ein einmaliger Zellteilungsakt löst diese Diskrepanz sinnvoll. Es sei ferner auf eine biologisch interessante Zeitrelation hingewiesen: Zwischen der Mitosedauer und der Generationszeit eines jeden Erythroblasten besteht die Relation von $1/24$ Std., zwischen der Reticulocytenreifungszeit und der Erythrocytenlebensspanne von $5/125$ Tagen, also die gleiche Relation.

Offen bleibt zunächst die Frage nach dem Volumenüberschuß, der trotz des einmaligen Teilungsaktes resultiert. Wenn aus einem Reticulocyten mit dem Volumen 3 2 Erythrocyten mit einem Volumen 1 entstehen, so bleibt ein Volumen 1 übrig, es sei denn, man würde an eine Dreiteilung denken. Es gäbe aber noch eine andere Erklärungsmöglichkeit: Das Restvolumen wird vom Achromocyten beansprucht. Dieser wäre dann ein verbleibender Gerüst- oder Hüllenrest des Reticulocyten. Daß man ihn viel seltener findet als den Reticulocyten selbst kann eine reine Frage der Lebensdauer sein. Bei einer Überlebenszeit von 1 Std. z. B. würde man auf 100—150 Reticulocyten erst einen Achromocyten finden müssen. Wir werden auch diese Frage zu klären trachten.

Halten wir uns noch einmal das Aufbau- und Ablaufmodell der Gesamterthropoese¹ vor Augen, so bleibt noch ein einziger zu klärender Faktor, die Reticulocytenreifungszeit. Wir haben schon eingangs betont, daß wir die von HEATH-DALAND, YOUNG-

¹ Siehe die Abb. 1 bei H. WEICKER, *Ärztl. Wschr.* 9, 1017 (1954).

LAWRENCE und NINNI ermittelten Werte von 4 bis 6 Tagen deshalb am leichtesten anzuerkennen vermögen, weil die Versuche dieser Autoren am ehesten physiologischen Verhältnissen zu entsprechen schienen. Sie fügen sich auch sinnvoll in die quantitative Analyse der Reticulocytenkrise ein: Der Quotient aus der Summe aller während der Krise ausgezählten absoluten Reticulocytentageswerte und der Reifungszeit ist genau halb so groß wie die Zahl der 2—3 Tage nach Krisenende definitiv neugebildeten Erythrocyten. Die Hypothese: 1 Erythroblast \rightarrow 1 Reticulocyt \rightarrow 1 Erythrocyt läßt sich nicht aufrechterhalten.

Zusammenfassung. 1. Wir erörterten die quantitativen Fakten, die uns von den reifen $K^{1/8}$ -Erythroblasten, den Reticulo- und den Erythrocyten bekannt sind, Mengen-, Volumen- und Zeitrelationen.

2. Die Mengenrelationen basieren auf der allgemein anerkannten Vorstellung, daß aus einem Erythroblasten ein Reticulocyt und aus diesem ein Erythrocyt entsteht.

3. Die Zeitrelationen geben für einen Erythroblasten 24 Std, für einen Reticulocyt wahrscheinlich 4—6 Tage und für einen Erythrocyten 120 bis 130 Tage.

4. Die Volumenrelationen brachten für den $K^{1/8}$ -Erythroblasten den theoretischen Wert von rund $340 \mu^3$, für sein Plasma von $270 \mu^3$ und für den Erythrocyten von $85 \mu^3$. Ein Reticulocytenvolumenwert des Menschen fehlt in der hämatologischen Literatur.

5. Wir gaben einfache Formeln an, die erlauben, das Reticulocytenvolumen aus dem Reticulocytensprozentatz und dem mittleren Erythrocytenvolumen zu berechnen. Es liegt beim Menschen zwischen 250 und $310 \mu^3$, ist also rund 3mal so groß wie das eines Erythrocyten.

6. Wir unterbauten diese Berechnungen durch Tierexperimente, in denen wir zeigen konnten, daß zwischen dem Kaninchenreticulo- und -erythrocyten eine ähnliche 3:1-Volumenrelation besteht wie beim Menschen.

7. Wir fanden charakteristische Unterschiede der zwischen dem Reticulocytensprozentatz und dem mittleren Erythrocytenvolumen bestehenden Korrelation bei einem Vergleich des auf- und des absteigenden Schenkels der Reticulocytenkrise.

8. Wir konnten diese Diskrepanz mit Hilfe des Lag-Problems lösen. Es bewies uns die Existenz eines Reticulocytens ohne Substantia reticulo-filamentosa im Anschluß an die Reticulocytenreifung.

9. Die Dauer dieses Zwischenstadiums währt beim Kaninchen $1\frac{1}{2}$ Tage, beim Menschen wahrscheinlich 2—3 Tage.

10. Wir erörterten die klinische Bedeutung der neugefundenen Fakten — eine Überprüfung des

Makrocytosebegriffs bei den sog. makrocytären hämolytischen Anämien und vielleicht auch bei der Hepatitis.

11. Wir gaben Hinweise auf die biologische Bedeutung der errechneten Fakten, insbesondere auf die Möglichkeit, die Reticulocyten in das von uns aus der quantitativen Analyse der Erythroblasten mit Hilfe der kombinatorischen Logik konstruierte Modell der Erythropoese einzubeziehen.

12. Wir wiesen auf die Notwendigkeit hin, eine einmalige Reticulocytenteilung annehmen zu müssen.

Literatur. ADLERSBERG-GOTTSEGEN: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **141**, 129 (1929). — ALBRECHT: Filmvorführung III. Internat. Kongr. der Europ. Ges. für Hämatol., Rom 1951. — ASHBY, W.: Blood **3**, 486 (1948). — BAAR, H. S., T. W. LLOYD: Arch. Dis. Childh. **18**, 1, 64, 124 (1943). — BOSTROEM, L.: Acta med. scand. (Stockh.) **131**, 303 (1948). — BRUGSCH, J. T.: Fol. haemat. (Lpz.) **45**, 295 (1931). — BURGIO, R., e N. I. CARACCI: Haematologica (Pavia) **35**, 4 (1951). — COHN, E. J., G. R. MINOT, G. A. ALLES and W. T. SALZER: J. of Biol. Chem. **77**, 325 (1928). — COTTI, L., u. D. CIBOLDI: Fol. haemat. (Lpz.) **64**, 158 (1940). — CRUZ, W. O.: Amer. J. Med. Sci. **202**, 781 (1941); **203**, 848 (1942). — DAMESHEK, W., H. H. HENSTELL and VALENTINE: Ann. Int. Med. **11**, 801 (1937). — EHRlich, P.: Berl. klin. Wschr. **1881**, 43. — FORSELL, J.: Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. **101** (1939). — GEBELEIN, H., u. H. J. HEITE: Statistische Urteilsbildung. Berlin: Springer 1951. — GIFFIN, H. T., and E. D. ALLEN: Ann. Int. Med. **1**, 655 (1928). — GOLDECK, H., u. K. H. BEHNKE: Ärztl. Forsch. **5**, 240 (1951). — HEATH, C. W., and G. A. DALAND: Arch. Int. Med. **46**, 533 (1930). — HEILMEYER, L.: Handbuch der inn. Med., 3. Aufl., Bd. 2. Berlin: Springer 1942. — HEILMEYER, L., u. R. WESTHAUSER: Z. klin. Med. **121**, 361 (1932). — ISTOMANOWA, T.: Z. exper. Med. **52**, 140 (1926). — Dtsch. Arch. klin. Med. **153**, 106 (1926). — JONES, O. P.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **38**, 144 (1938). — LAWRASON, F. D., D. C. ELTZHOLTZ, C. R. SIFE and P. K. SCHORK: Blood **4**, 1256 (1949). — LONG, P. A.: J. Clin. Invest. **2**, 315 (1926). — MORAWITZ u. DENECKE: Blut und Blutkrankheiten. In Handbuch der Inneren Medizin, 2. Aufl. Berlin: Springer 1926. — NAEGELI, O.: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, 5. Aufl. Berlin: Springer 1931. — NINNI, M.: I Reticolociti, Pavia: Tipografia del Libro. 1949. — NIZET: Acta med. scand. (Stockh.) **124**, 590 (1946); **127**, 565 (1947). — PEPPER: Arch. Int. Med. **30**, 801 (1922). — PERSONS, E. L.: J. Clin. Invest. **7**, 615 (1929). — PLUM, C. M.: Schweiz. med. Wschr. **1948**, 988. — RAPOPORT, S., G. M. GUEST and M. WING: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **57**, 344 (1944). — RICKETTS, W. E.: Blood **3**, 1025 (1948). — RIDDLE, M. C.: Amer. J. Med. Sci. **200**, 145 (1940). — RUHENSTROTH-BAUER, G.: Klin. Wschr. **1950**, 780. — SALTZMAN, G. F.: Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. **221** (1949). — SCHILLING, V.: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. VI/2. Berlin: Springer 1928. — SENO, S., K. KAWAI, S. KANDA and K. NISHIKAWA: Mie. Med. **J. 1953**, IV. Suppl., 1—5. — SHEMIN, D., and D. RITTENBERG: J. of Biol. Chem. **159**, 267 (1945); **166**, 621 (1946). — SMITH, TH.: Zit. nach HEATH u. DALAND. — WEICKER, H.: (1) Klin. Wschr. **1953**, 637. — (2) Schweiz. med. Wschr. **1954**, 245, 1124. — (3) Acta med. scand. (Stockh.) (im Druck). — (4) Z. klin. Med. **151**, 407 (1954). — (5) Ärztl. Wschr. **1954**, 1017. — WINTROBE, M. M.: J. Clin. Invest. **13**, 669 (1934). — Clinical Hematology, 2. Aufl. Philadelphia: Lea a. Febiger 1947. — YOUNG, L. E., and J. S. LAWRENCE: J. Clin. Invest. **24**, 554 (1945).

DIE WIRKUNG DES ALUMINIUMHYDROXYDS AUF DIE IMMUNISATORISCHEN EIGENSCHAFTEN INAKTIVIERTER POLIOMYELITIS-VACCINE.

Von

R. HAAS, V. DOSTAL und R. SAUTHOFF.

Aus den Behringwerken, Marburg a. d. Lahn und der Universitäts-Kinderklinik in Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. W. KELLER).

Während die gegenwärtig in den USA. zur Anwendung gelangenden Poliomyelitisimpfstoffe keine Adjuvantien enthalten, setzte SALK¹ zu Beginn seiner

Untersuchungen über die aktive Schutzimpfung gegen Poliomyelitis den Vaccinen zur Erhöhung der immunisatorischen Wirkung gewisse Verstärkerstoffe zu