

EUR 4043 d

ASSOZIATION

**Europäische Atomgemeinschaft - EURATOM
Gesellschaft für Strahlenforschung mbH - GFS**

**OSTEOMYELOFIBROSE IN RATTEN NACH LETALER
GANZKÖRPERBESTRAHLUNG UND TRANSFUSION
ALLOGENER KNOCHENMARKZELLEN**

von

H. BECKER, E.P. CRONKITE, T.M. FLIEDNER, H. MESSNER und R. STODTMEISTER

1968



**Bericht abgefasst bei der Abteilung für Klinische Physiologie,
Zentrum für Klinische Grundlagenforschung der Universität Ulm
Ulm/Donau - Deutschland**

Assoziation Nr. 031-64-1 BIAD

HINWEIS

Das vorliegende Dokument ist im Rahmen des Forschungsprogramms der Kommission der Europäischen Gemeinschaften ausgearbeitet worden.

Es wird darauf hingewiesen, dass die Kommission der Europäischen Gemeinschaften, ihre Vertragspartner und die in deren Namen handelnden Personen :

keine Gewähr dafür übernehmen, dass die in diesem Dokument enthaltenen Informationen richtig und vollständig sind, oder dass die Verwendung der in diesem Dokument enthaltenen Informationen, oder der in diesem Dokument beschriebenen technischen Anordnungen, Methoden und Verfahren nicht gegen gewerbliche Schutzrechte verstößt;

keine Haftung für die Schäden übernehmen, die infolge der Verwendung der in diesem Dokument enthaltenen Informationen oder der in diesem Dokument beschriebenen technischen Anordnungen, Methoden oder Verfahren entstehen könnten.

Dieser Bericht wird in den auf der vierten Umschlagseite genannten Vertriebsstellen

zum Preise von DM 18,-	FF 22,50	FB 225,-	Lit. 2.800	Fl. 16,-
------------------------	----------	----------	------------	----------

verkauft.

Es wird gebeten, bei Bestellungen die EUR-Nummer und den Titel anzugeben, die auf dem Umschlag jedes Berichts aufgeführt sind.

Gedruckt von SMEETS
Brüssel, November 1968

Das vorliegende Dokument wurde an Hand des besten Abdruckes vervielfältigt, der zur Verfügung stand.

EUR 4043 d

OSTEOMYELOFIBROSE IN RATTEN NACH LETALER GANZKÖRPERBESTRAHLUNG UND TRANSFUSION ALLOGENER KNOCHENMARKZELLEN von H. BECKER, E.P. CRONKITE, T.M. FLIEDNER, H. MESSNER und R. STODTMEISTER

Assoziation : Europäische Atomgemeinschaft - EURATOM
Gesellschaft für Strahlenforschung mbH - GFS

Bericht abgefasst bei der Abteilung für Klinische Physiologie, Zentrum für Klinische Grundlagenforschung der Universität Ulm, Ulm/Donau (Deutschland)

Brüssel, November 1968 - 172 Seiten - 40 Abbildungen - FB 225

1. Es wird über die klinischen, pathologisch-anatomischen sowie histologischen Befunde berichtet, die sich an 468 nicht osteomyelofibrotischen sowie an 48 osteomyelofibrotisch veränderten Ratten nach Ganzkörperbestrahlung und nachfolgender Knochenmarkzelltransfusion fanden.

EUR 4043 d

OSTEOMYELOFIBROSIS IN RATS AFTER LETHAL WHOLE-BODY IRRADIATION AND TRANSFUSION OF ALLOGENIC BONE MARROW CELLIS by H. BECKER, E.P. CRONKITE, T.M. FLIEDNER, H. MESSNER and R. STODTMEISTER

Association : European Atomic Energy Community - EURATOM
Gesellschaft für Strahlenforschung mbH - GFS

Report prepared at the Abteilung für Klinische Physiologie, Zentrum für Klinische Grundlagenforschung, University of Ulm, Ulm/Donau (Germany)

Brussels, November 1968 - 172 Pages - 40 Figures - FB 225

1. The report covers the clinical, pathological-anatomical and histological findings discovered on 468 non-osteomyelofibrotic and 48 osteomyelofibrotically changed rats after whole-body irradiation and consequent bone marrow cell transfusion.

EUR 4043 d

OSTEOMYELOFIBROSIS IN RATS AFTER LETHAL WHOLE-BODY IRRADIATION AND TRANSFUSION OF ALLOGENIC BONE MARROW CELLIS by H. BECKER, E.P. CRONKITE, T.M. FLIEDNER, H. MESSNER and R. STODTMEISTER

Association : European Atomic Energy Community - EURATOM
Gesellschaft für Strahlenforschung mbH - GFS

Report prepared at the Abteilung für Klinische Physiologie, Zentrum für Klinische Grundlagenforschung, University of Ulm, Ulm/Donau (Germany)

Brussels, November 1968 - 172 Pages - 40 Figures - FB 225

1. The report covers the clinical, pathological-anatomical and histological findings discovered on 468 non-osteomyelofibrotic and 48 osteomyelofibrotically changed rats after whole-body irradiation and consequent bone marrow cell transfusion.

EUR 4043 d

OSTEOMYELOFIBROSIS IN RATS AFTER LETHAL WHOLE-BODY IRRADIATION AND TRANSFUSION OF ALLOGENIC BONE MARROW CELLIS by H. BECKER, E.P. CRONKITE, T.M. FLIEDNER, H. MESSNER and R. STODTMEISTER

Association : European Atomic Energy Community - EURATOM
Gesellschaft für Strahlenforschung mbH - GFS

Report prepared at the Abteilung für Klinische Physiologie, Zentrum für Klinische Grundlagenforschung, University of Ulm, Ulm/Donau (Germany)

Brussels, November 1968 - 172 Pages - 40 Figures - FB 225

1. The report covers the clinical, pathological-anatomical and histological findings discovered on 468 non-osteomyelofibrotic and 48 osteomyelofibrotically changed rats after whole-body irradiation and consequent bone marrow cell transfusion.

2. Die Bedeutung der Versuchsbedingungen für die Entstehung einer Fibrose wurde untersucht.
3. Vergleiche mit nichtmyelofibrotischen Ratten derselben Versuchsserien sowie mit den Veränderungen bei der Osteomyelofibrose des Menschen wurden angestellt, wobei die weitgehende Übereinstimmung - vor allem in histo-pathogenetischer Sicht - zwischen der menschlichen und der beschriebenen Rattenosteomyelofibrose festgestellt werden konnte.
4. Die auf der Basis des Versuchsmodells und der Befunde möglichen Ätiologien für die Entstehung der beschriebenen Veränderungen in unseren Versuchstieren wurden erörtert, wobei der Schwerpunkt auf einer immunologischen Deutung im Sinne einer Autoimmunreaktion lag.
5. Die Bedeutung einer solchen Auffassung für das Verständnis und die Einordnung bestimmter Formen der Osteomyelofibrose beim Menschen wurden diskutiert.

2. The importance of the experimental conditions for the formation of a fibrosis was examined.
3. Comparisons were drawn with non-myelofibrotic rats used in the same series of experiments, as well as with the changes-observed in osteomyelofibrosis in humans, where it was possible to confirm the extensive similarity, above all from the histo-pathological point of view, between the human form and the described osteomyelofibrosis in rats.
4. The possible etiologies for the production of the described mutations in our test animals were discussed on the basis of the test models and the findings obtained, stress being laid on an immunologic interpretation in accordance with an autoimmunization reaction.
5. The significance of such an interpretation for the comprehension and the classification of certain forms of osteomyelofibrosis in humans were discussed.

2. The importance of the experimental conditions for the formation of a fibrosis was examined.
3. Comparisons were drawn with non-myelofibrotic rats used in the same series of experiments, as well as with the changes-observed in osteomyelofibrosis in humans, where it was possible to confirm the extensive similarity, above all from the histo-pathological point of view, between the human form and the described osteomyelofibrosis in rats.
4. The possible etiologies for the production of the described mutations in our test animals were discussed on the basis of the test models and the findings obtained, stress being laid on an immunologic interpretation in accordance with an autoimmunization reaction.
5. The significance of such an interpretation for the comprehension and the classification of certain forms of osteomyelofibrosis in humans were discussed.

2. The importance of the experimental conditions for the formation of a fibrosis was examined.
3. Comparisons were drawn with non-myelofibrotic rats used in the same series of experiments, as well as with the changes-observed in osteomyelofibrosis in humans, where it was possible to confirm the extensive similarity, above all from the histo-pathological point of view, between the human form and the described osteomyelofibrosis in rats.
4. The possible etiologies for the production of the described mutations in our test animals were discussed on the basis of the test models and the findings obtained, stress being laid on an immunologic interpretation in accordance with an autoimmunization reaction.
5. The significance of such an interpretation for the comprehension and the classification of certain forms of osteomyelofibrosis in humans were discussed.

EUR 4043 d

ASSOCIATION

**Europäische Atomgemeinschaft - EURATOM
Gesellschaft für Strahlenforschung mbH - GFS**

**OSTEOMYELOFIBROSE IN RATTEN NACH LETALER
GANZKÖRPERBESTRAHLUNG UND TRANSFUSION
ALLOGENER KNOCHENMARKZELLEN**

von

H. BECKER, E.P. CRONKITE, T.M. FLIEDNER, H. MESSNER und R. STODTMEISTER

1968



**Bericht abgefasst bei der Abteilung für Klinische Physiologie,
Zentrum für Klinische Grundlagenforschung der Universität Ulm
Ulm/Donau - Deutschland**

Assoziation Nr. 031-64-1 BIAD

SUMMARY

ZUSAMMENFASSUNG

Der vorliegende Bericht untersucht die Eignung der Feldionen-massenspektrometrie zur quantitativen Analyse hochsiedender Polyphenyle und Polyphenylgemische.

Dabei ergibt sich, dass die Feldionisierung zur Gruppenanalyse der Polyphenyle sehr geeignet ist, da die Massenspektren sehr einfach sind (keine Bruchstücke mit relativen Intensitäten $> 1\%$) und die Feldionisierungswahrscheinlichkeiten der verschiedenen Polyphenyle innerhalb der Messgenauigkeit übereinstimmen.

Schwierigkeiten sind mit der Probenzuführung zum Massenspektrometer verbunden. Bei Benutzung eines Hochtemperatur-Gaseinlass-Systems ergab sich eine thermische Zersetzung der Proben. Die schliesslich verwendete Direktverdampfung der Proben aus einem Öfchen machte einen Ionennachweis mittels Photoplattenintegration notwendig.

SCHLAGWORTE

MASS SPECTROMETERS
ION MICROSCOPY
DETERMINATION
POLYPHENYLS
BOILING

MIXTURES
EVAPORATION
ION SOURCES
PHOTOGRAPHIC FILM

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung und Fragestellung	11
2. Allgemeine Grundlagen	13
2.1. Osteomyelofibrose beim Menschen. Ätiologische und pathogenetische Vorstellungen	13
2.2. Allgemeines zur Knochenmarkstruktur und zur Transfusion von Knochenmarkzellen	22
3. Material und Methoden	38
3.1. Versuchsbedingungen	38
3.1.1. Tiermaterial	38
3.1.2. Suspensionen	38
3.1.3. Vorbehandlung der Spenderzellen	40
3.1.4. Bestrahlung	40
3.1.5. Gewinnung des Untersuchungsmaterials	41
3.2. Materialauswertung	42
3.2.1. Peripheres Blut	42
3.2.2. Histologische Präparate	43
3.2.2.1. Intervalleinteilung	43
3.2.2.2. Knochenmark-quantitativ	43
3.2.2.3. Knochenmark-qualitativ	44
3.2.2.4. Milz -quantitativ	45
3.2.2.5. Milz -qualitativ	46
3.2.2.6. Lymphknoten	46
3.2.2.7. Leber	46
4. Ergebnisse	51
4.1. Klinische Befunde	51
4.1.1. Mortalität	51
4.1.2. Körpergewicht	54
4.1.3. Periphere Blutbilder	55
4.1.3.1. Gesamtzahl kernhaltiger Zellen	59
4.1.3.2. Neutrophile	59
4.1.3.2.1. Segmentkernige	59
4.1.3.2.2. Reife Stabkernige	59
4.1.3.2.3. Unreife Weiße Vorstufen	64

	Seite
4.1.3.3. Eosinophile	64
4.1.3.4. Lymphozyten	64
4.1.3.5. Monocytoide Zellen	64
4.1.3.6. Erythrocyten	66
4.1.3.7. Rote Vorstufen	66
4.1.3.8. Thrombocyten	69
4.1.3.9. Auftreten von Blutzellvorläu- fern im peripheren Blut in Ab- hängigkeit vom Grad der Kno- chenmarkfibrose	69
4.1.4. Klinische und postmortale Befunde	69
4.1.5. Bedeutung der Suspensionsvorbehandlung und anderer Versuchsbedingungen für die Fibroseeentstehung	74
4.2. Histologiebefunde	77
4.2.1. Knochenmark	77
4.2.1.1. Knochenmark nicht myelofibro- tischer Ratten. Zusammenfas- sung für die ersten 50 Tage nach Bestrahlung	77
4.2.1.2. Einzelbefunde	78
4.2.1.3. Befunde jenseits des 50. Ta- ges nach Bestrahlung	81
4.2.1.4. Myelofibrotisches Knochenmark (Kasuistik) bis zum 20. Tag nach Bestrahlung	81
4.2.1.5. Zusammenfassende Beurteilung	89
4.2.1.6. Myelofibrotisches Knochenmark (Kasuistik) jenseits des 20. Ta- ges nach Bestrahlung	89
4.2.1.7. Zusammenfassende Beurteilung der Präparate jenseits des 20. Tages nach Bestrahlung	97
4.2.1.8. Besprechung der bei den Myelo- fibrosetieren gefundenen Er- gebnisse	97

	Seite
4.2.1.8.1. Verteilungsmodus der Fibrose im Knochenmark	97
4.2.1.8.2. Fibrosegrad und extra- medulläre Blutbildung	101
4.2.1.8.3. Fibrose in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach der Bestrahlung	101
4.2.1.8.4. Fibrose in einzelnen Organen	105
4.2.1.9. Quantitative Befunde im Knochen- mark getöteter, gestorbener und myelofibrotischer Ratten	105
4.2.1.9.1. Regeneration	105
4.2.1.9.2. Eosinophile	109
4.2.1.10. Knochenmarkhistologie bei Repro- duktionsversuchen	110
4.2.2. Histologie der Milz	113
4.2.2.1. Getöteter Ratten	113
4.2.2.2. Milz gestorbener Ratten	115
4.2.2.3. Milzen myelofibrotischer Ratten	118
4.2.2.4. Zusammenfassende Beschreibung der Milzbefunde	121
4.2.2.5. Interpretation der Milzbefunde	125
4.2.3. Lymphknoten-Histologie	130
4.2.3.1. Getötete Ratten	130
4.2.3.2. Spontan gestorbene Ratten	131
4.2.3.3. Ratten mit fibrotischem Knochen- mark	133
4.2.3.4. Besprechung der Lymphknoten- befunde	134
4.2.4. Leber-Histologie	135
4.2.4.1. Getötete Ratten	137
4.2.4.2. Spontan gestorbene Ratten	138
4.2.4.3. Leber von Ratten mit KM-Fibrose	139
4.2.4.4. Zusammenfassende Besprechung der Leberbefunde	140

	Seite
5. Diskussion	143
5.1. Diskussion von Befunden	143
5.2. Histopathogenese der Osteomyelofibrose	146
5.3. Ätiologie	152
5.3.1. Behinderung der Markdurchblutung	152
5.3.2. "Delayed rejection/reverting"-Theorie	153
5.3.3. Immunologische Ätiologien	154
5.3.3.1. cytotoxische Reaktionen	155
5.3.3.2. Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp	156
5.3.3.3. Autoimmunreaktion	157
5.3.3.4. Zusammenfassende Betrachtung der immunologischen Möglich- keiten	158
5.3.4. Bedeutung der Rattenmyelofibrose für das Verständnis der klinischen Myelo- fibrose	159
7. Literaturverzeichnis	162

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen.

	nach Seite
Abb. 1 Modell der Pathogenese der klinischen Osteomyelofibrose	16
Abb. 2 Schema zur Entstehung der Osteomyelofibrose beim Menschen	21
Tab. 1 Zusammenstellung der einzelnen Experimente mit Details über die Versuchsbedingungen	34
Tab. 2 Zusammenstellung einzelner Daten von 48 Ratten mit Osteomyelofibrose	47
Abb. 3 Verteilung der Fibrosetiere und der nichtfibrotischen Tiere in Abhängigkeit von Todesart und Zeitpunkt nach Bestrahlung und KM-Transfusion	49
Tab. 2a Absolute und prozentuale Verteilung des untersuchten Tiermaterials auf die einzelnen Intervalle nach Bestrahlung unter Berücksichtigung der Todesart und myelofibrotischer Veränderungen	50
Tab. 2b Verteilung fibrotischer und nichtfibrotischer Tiere (als Kollektiv jeweils gleich 100 % gesetzt) auf die einzelnen Intervalle nach Bestrahlung	52
Abb. 4 Gewichtsverhalten fibrotischer und nichtfibrotischer Tiere nach Bestrahlung und KM-Transfusion	53
Abb. 5 Kernhaltige Zellen im peripheren Blut	56
Abb. 6 Segmentkernige " " "	57
Abb. 7 Reife Stabkernige " " "	58
Abb. 8 Unreife granulopoetische Vorstufen im peripheren Blut	60
Abb. 9 Eosinophile Granulocyten im peripheren Blut	61
Abb. 10 Lymphocyten " " "	62
Abb. 11 Monocytoide Zellen " " "	63
Abb. 12 Erythrocyten " " "	65
Abb. 13 Unreife rote Vorstufen " " "	65

	nach Seite	
Abb. 14	Thrombocyten im peripheren Blut	67
Abb. 15	Unreife Blutzellen im peripheren Blut in Abhängigkeit vom Reifegrad der KM-Fibrose	68
Tab. 3	Klinische und Pathologisch-anatomische Befunde an 48 Ratten mit Osteomyelofibrose	72
Tab. 4	Bedeutung der KM-Suspensionsvorbehandlung für Auftreten und Häufung von KM-Fibrosen	73
Tab. 5	Einteilung der Osteomyelofibrosen entsprechend ihres Verteilungsmodus im KM-Parenchym	96
Tab. 6	Extramedulläre Hämapoese und Osteomyelofibrose	98
Abb. 16	Ausbreitung und Reifegrad bei Rattenmyelofibrose	99
Abb. 17	Auftreten von Osteomyelofibrosen in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach Bestrahlung und KM-Transfusion	100
Tab. 7	Fibrosierung einzelner Organe in Ratten mit Osteomyelofibrose	102
Abb. 18	Megakaryocyten im KM getöteter Ratten	103
Abb. 19	" " " gestorbener "	104
Abb. 20	" " " fibrotischer "	104
Abb. 21	Eosinophile im KM getöteter Ratten	106
Abb. 22	" " " gestorbener "	107
Abb. 23	" " " fibrotischer "	108
Tab. 8	Milzbefunde	111
Abb. 25	Keimzentren/cm ² Milzschnittfläche	112
Abb. 26	Lymphocyten/KZ in Milzschnitten	112
Abb. 24	Häufigkeit verschiedener Keimzentrendichten in Milzschnitten	124
Abb. 27	Keimzentrendichte in fibrosierten und nicht-fibrosierten Milzen	126
Abb. 28	Lymphocytendichte in Keimzentren fibrosierter und nichtfibrosierter Milzen	126
Tab. 9	Milzhämopoese in Abhängigkeit vom Grad der Milzfibrosierung	127

	nach Seite
Tab. 10 Lymphknotenbefunde	129
Tab. 11 Leberbefunde	136
Abb. 29-40 Histopathogenese der Rattenosteomyelo- fibrose bzw. -sklerose	149

OSTEOMYELOFIBROSE IN RATTEN NACH LETALER GANZKÖRPERBESTRAHLUNG
UND TRANSFUSION ALLOGENER KNOCHENMARKZELLEN⁽⁺⁾

1. Einleitung und Fragestellung

Wir beobachteten in einer auf mehrere Hundert Tiere abgestellten Versuchsserie an letal bestrahlten Ratten, denen allogene Knochenmarkzellen transfundiert worden waren, in 9,3 % der Tiere die Entwicklung von Knochenmarkfibrosen. Dieser Prozentsatz war noch wesentlich höher, wenn man nur jene Tiere in Betracht zog, die zwischen dem 15. u. 40. Tag nach Bestrahlung und Knochenmarktransfusion starben, wobei der Prozentsatz auf etwa 26 % hinaufging. Der Anteil der Tiere innerhalb der Myelofibrosegruppe, die auf diesen Zeitraum entfielen, belief sich auf rund 40 %.

Dieser Befund war völlig unerwartet, da der Versuch darauf angelegt war zu prüfen, ob durch Vorbehandlung der Spenderzellen mit verschiedenen Maßnahmen und Chemotherapeutika eine Eliminierung von immunkompetenten Zellen (ICC) mit einer besseren Verträglichkeit der Knochenmarktransfusion erreicht werden konnte.

Der erwähnte Zeitraum vom 15. bis 40. Tag nach Bestrahlung und Knochenmarktransfusion ist für Knochenmarktransfusionsuntersuchungen von besonderem Interesse. Es ist seit langem bekannt, daß sich etwa in diesem Zeitraum jene Vorgänge abspielen, die darüber entscheiden, ob ein Transplantat angeht oder nicht angeht. Aus den Untersuchungen von Balner (5) geht sehr eindeutig hervor, daß sich in dieser Zeit eine "graft-versus-host-" (GVHR) oder "host-versus-graft-reaction" finden kann und daß es in dieser Zeit zu einer sogenannten "verzögerten Abstoßung" kommen kann. Aus diesem Grunde lag die Frage nahe, ob es sich bei den beobachteten Myelofibrosen um Reaktionen auf immunologische Vorgänge handeln könnte.

Andererseits ist der Befund einer experimentellen Erzeugung von Knochenmarkfibrosen von so großer Bedeutung für die Frage der Ätiologie und Pathogenese bestimmter klinischer Fälle von "genuiner" Knochenmarkfibrose, daß wir uns entschlossen haben, unsere ursprüngliche Fragestellung nach den Möglichkeiten der Eliminierung von immunkompetenten Zellen aus Knochenmarksuspensionen zurückzustellen und in der vorliegenden Arbeit zu versuchen, den möglicher-

⁽⁺⁾Manuskript erhalten am 22. Mai 1968.

weise stattgefundenen Ablauf der Entstehung der Knochenmarkfibrose zu rekonstruieren und die möglichen ätiologischen und pathogenetischen Faktoren herauszuarbeiten, die für die Myelofibroseeentstehung in Frage kommen könnten.

2. Allgemeine Grundlagen

2.1. Osteomyelofibrose beim Menschen: ätiologische und pathogenetische Vorstellungen

- Klinisches Bild

Die Knochenmarkfibrose stellt trotz unterschiedlicher Ätiologie ein klinisch recht gut umrissenes Syndrom dar (83). Stodtmeister und Sandkühler trennen sie gegen die Osteomyelosklerose mit ihrem längeren Verlauf und dem im typischen Bild stark entwickelten Milztumor ab (83), während Andreasen (1) die Osteomyelosklerose als Spätstadium einer Myelofibrose verstanden wissen möchte, da eine Sklerose meist gleichzeitig eine schwere Fibrose aufweist. Allerdings streitet auch er nicht die Existenz von schweren Fibrosen ohne Sklerose ab und erklärt sich diese Tatsache damit, daß die Entwicklung einer Sklerose wohl nicht nur vom Zeitpunkt und der Dauer sondern auch von der Intensität abhängt, mit der der auslösende Faktor einwirkt.

Die "genuine" Knochenmarkfibrose, für die sich eine äußere Ursache nicht finden läßt, ist ausgesprochen eine Krankheit des höheren Alters mit einem Gipfel zwischen dem 40. und 70. Lebensjahr (83); Andreasen findet einen zweiten Gipfel zwischen dem 0. und 10. Lebensjahr.

Sowohl Stodtmeister als auch Andreasen finden keine signifikante Abhängigkeit zwischen schweren anderen Erkrankungen und dem Auftreten einer Knochenmarkfibrose in der Vorgeschichte der Patienten. Stodtmeister und Sandkühler fiel lediglich die gehäufte Angabe rheumatischer Leiden auf. André, Schwartz und Dameshek (2) und andere halten einen Zusammenhang mit Tuberkulose für möglich. Daneben wird immer wieder das Vorausgehen einer Polycythämia vera (83) erwähnt, wobei fibröse Markveränderungen offenbar auch ohne das Mark schädigende cytostatische Behandlung zur Entwicklung kommen. Retznikoff (74) wies auf lokale Markanoxien hin, welche zur Polyglobulie führen können, wobei Retznikoff besonders die Bedeutung arteriosklerotischer

Veränderungen und einer Zunahme der Kapillarwanddicke betont. Für solche Fälle wäre auch ohne cytostatische Behandlung eine spontane Markverödung verständlich, wie Dameshek (aus 83) sogar für alle Fälle (bei genügend langer Lebensdauer) postuliert.

Hinsichtlich der klinischen Symptomatologie wird einheitlich der uncharakteristische Verlauf betont, der vielen Blutkrankheiten, u.a. der Leukämie, ähnelt. Müdigkeit, Gewichtsverlust, Blässe, Fieber, Milz- und Lebervergrößerung, Herzklopfen, Atemnot und eventuell Blutungsneigungen stehen im Vordergrund. Im Gegensatz zur Leukämie hat die Myelofibrose eine lange Latenzperiode; Knochen- und Gelenkschmerzen sowie Milzdrucksymptome sind ausgeprägter (Andreasen, 1). Lymphknotenvergrößerungen sind selten. Andreasen betont, daß keines der klinischen Symptome und keine der Veränderungen in Organen und im peripheren Blutbild in eindeutiger Relation steht zu dem Schweregrad der Knochenmarkfibrose, wohl weil neben dem Grad der Fibrose das Vorhandensein nicht fibrotischer Markbezirke, das Ausmaß der extramedullären Blutbildung und der splenogenen Markhemmung und Verkürzung der Erythrozyten-Lebensdauer von Bedeutung sind.

Das rote Blutbild ist charakterisiert (83) durch eine mehr oder weniger stark ausgeprägte normochrome Anämie mit vereinzelt bis zahlreichen Normoblasten im Blutausschlag. Andreasen (1) gibt 1-20 % Normoblasten an, während bei Leukämie selten mehr als 1-5 % auftreten. Häufig treten Anisozytose, Poikilozytose, Polychromasie, Ovalozytose auf. Manchmal finden sich Makro- oder sogar Megalozytose. Sowohl Stodtmeister und Sandkühler als auch Andreasen berichten von vereinzelt perniciosiformen Blutbildern. Die Erythrozytenresistenz gegen hypotone NaCl-Lösung ist meist vermindert (83) und der Serumeisenwert bewegt sich gewöhnlich innerhalb normaler Grenzen, kann aber auch in fortgeschrittenen Fällen erhöht sein. Oettgen und Pribilla (64) fanden heraus, daß das Plasma-Eisen-turn-over meist erhöht ist, die Erythrozytenlebenszeit häufig, wenn auch nur mässig vermindert ist, ebenso der Eiseneinbau in die Erythrozyten.

Die Granulocytopoese kann lange Zeit relativ wenig beeinträchtigt sein (83, 1). Es können aber unter Umständen bereits im Beginn

Granulocytopenien auftreten. Final finden sich nicht selten leukämische Schübe mit starker Linksverschiebung bis zu Myeloblasten. Die unreifen Vorstufen können 10-20 % des Differentialblutbildes ausmachen, terminal eventuell auch mehr. Der Tod erfolgt häufig im Myeloblastenschub. Hinzukommt zuweilen eine Verminderung der Phagozytoseleistung. Die alkalische Granulocytenphosphatase ist meist stark erhöht. Die Bildungsfähigkeit für zirkulierende Antikörper ist bei Myelofibrose nach Libansky (55) gut erhalten.

Die Thrombozytenverminderung geht der allgemeinen Knochenmarkfunktionsstörung gelegentlich parallel. Mit fortschreitender Dekompensation der Blutbildung sinken sie ab (83).

- Histologie des Knochenmarkes und Pathogenese

Stodtmeister und Sandkühler (83) finden im meist schwierig zu erhaltenden Punktat eine meist normale Relation zwischen roter und weisser Reihe, erwähnen jedoch auch Fälle mit überwiegender Erythropoese. Die weissen Zellen zeigen Linksverschiebungen verschiedenen Ausmasses und Zellreifungsstörungen. Das in Frühfällen gewonnene oft hyperplastisch erscheinende Punktat liefert noch keine sicheren pathognomonischen Befunde. Bei der histologischen Untersuchung ist das hervorstechendste Merkmal die Zunahme des Reticulums und des Bindegewebes. Letzteres ist in frühen Stadien zunächst stellenweise in vermehrten Fasern zwischen den erhaltenen Zellen erkennbar. An anderen Stellen kann man Ansammlungen serösen Exsudates, später auch Blutungen sehen. Unter den Knochenmarkzellen werden häufig besonders zahlreiche Megakaryozyten, gelegentlich auch vermehrte Eosinophile gefunden. Die Bindegewebsvermehrung ist in vorgeschrittenen Fällen so markant, daß das Mark einen völlig fibrösen Charakter annimmt. Daneben prägen die bereits erwähnten Blutungen das Bild, so daß das Mark bei der Autopsie ausgesprochen rot erscheinen kann. Das blutbildende Knochenmarkparenchym ist zu dieser Zeit in der Regel fast völlig verschwunden. Man findet jedoch im Rahmen der kompensatorischen Ausweichmyelopoese neue Blutbildungsherde auch in den Markschnitten, allerdings außerhalb des eigentlichen Markgewebes und innerhalb der Gefäße.

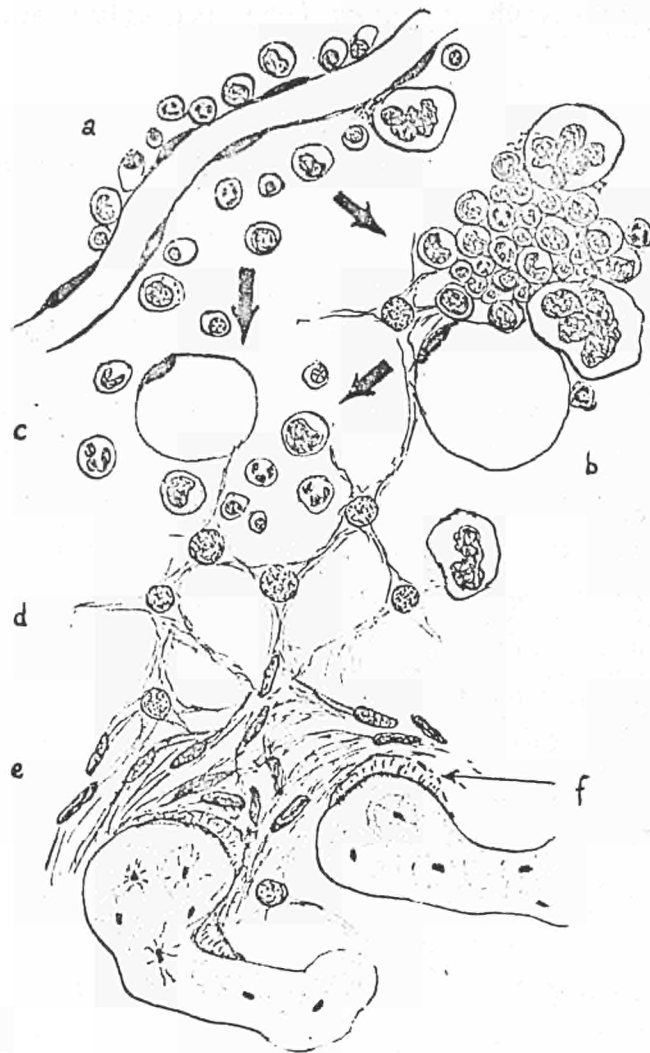


Abb. 1: Modell der Pathogenese der klinischen Osteomyelofibrose (aus: Stodtmeister, R., Sandkühler, St., Laur, A. "Osteosklerose und Knochenmarkfibrose" G. Thieme-Verlag, Stuttgart, 1953.

Stodtmeister und Sandkühler (83) rücken bei ihrer Einteilung Zustand und Funktion der Gefäße in den Mittelpunkt und unterscheiden:

1. Stadium: Störung der Permeabilität mit Erschwerung des Zellaustausches und eventuell konsekutiver Markhyperplasie.
2. Stadium: Seröse Exsudation mit Ausbildung eines proteinreichen Marködems.

Diese beiden Phasen laufen allerdings nicht gesetzmäßig zeitlich nacheinander ab. Sie können sich vielmehr überschneiden. Unter Umständen kann der Prozess so rasch in die genannte 2. Phase treten, daß es gar nicht erst zu einer zelligen Hyperplasie kommt. Auch Restitution aus diesen Stadien heraus wurde schon beobachtet.

Das 3. Stadium ist durch die bindegewebige Organisation des Exsudates gekennzeichnet. Die Form des dabei entstehenden Bindegewebes ist von Fall zu Fall verschieden und auch im Einzelfall nicht einheitlich.

In einigen Fällen ist noch ein 4. Stadium mit Osteoidbildung und zusätzlicher Entwicklung einer Osteomyelose erkennbar (s. auch Abb. 1).

Auch Andreasen (1) teilt die Knochenmarkveränderungen in vier Stadien ein:

- 1.) Diffuse Hyperplasie mit Linksverschiebung der Granulo- und Erythropoese, vielen megakaryozyten-ähnlichen Zellen und erhöhter Retikulum-Zellzahl. Letzteres bewog Rohr, Dubois-Ferrier, Stich u.a. (aus 1), statt von Myelofibrose von Osteo-myelo-retikulose zu reden.
- 2.) Nekrose-Felder mit Hyperplasiefeldern wie in 1.), weiterer Retikulumzellanstieg, Hämorrhagien und Gefäßerweiterung.
- 3.) Kleinere Nekrosefelder als in 2.), Auftreten von Fibroblasten, zum Teil in, zum Teil um die Nekrosen, zum Teil diffus gelagert. Viele Retikulumzellen haben längliche Form mit spindeligen Kern angenommen.
- 4.) Stärkere Fibrose, mehr oder weniger betonte Spongiosklerose an Stellen mit besonders starker Fibrose oder hoher Retikulumzellzahl.

- Histologie der Milz

Folgeerscheinung einer solchen Beeinträchtigung der Marktätigkeit ohne direkte Schädigung der Zellbildung und Zellreifung ist das "Ausweichen" der myeloischen Zellbildung in andere potentiell blutbildende Organe (Milz, Leber, Lymphknoten, Niere). Infolge der besonderen Strömungsverhältnisse, speziell in der Milz, kommt es zur Ausschwemmung unreifer Zellen in die Blutbahn ("erythroleukämoides" Blutbild). Neben der Myelopoese findet man in der Milz auch eine Vermehrung des Retikulums und des Bindegewebes sowie wechselnde, meist mässiggrade Hämosiderose.

Andreasen (1) unterscheidet in der Milz bei Myelofibrose vier Formen von Veränderungen:

- 1.) ausgeprägte diffuse Hämopoese
- 2.) Erythropoese, Retikulumzellproliferation und Fibrose
- 3.) Leichte Hämopoese und Fibrose, Retikulum- und Plasmazellproliferation
- 4.) keine Fibrose, aber exklusive Retikulum- und Plasmazellproliferation

Andreasen bezeichnet im Gegensatz zu anderen Autoren die extramedulläre Myelopoese nicht, oder jedenfalls nicht nur als kompensatorischen Vorgang. Als Argumente führt er Fälle an, die neben einer Anämie, Leukopenie und Thrombopenie eine markante extramedulläre Hämopoese zeigten. Des weiteren fand er in der Milz die gleichen Zellabnormitäten wie im Knochenmark und schliesst daraus auf eine gleichzeitige Schädigung von Knochenmark und Milz.

Man könnte allerdings an die Möglichkeit denken, daß sich durch das schädigende Agens veränderte Knochenmarkzellen sekundär in der Milz usw. ansiedeln könnten, dort proliferieren und die betreffenden Zellschäden auch in den Tochterzellen zeigen könnten oder aber, daß geschädigte, ortsständige Zellen kompensatorisch proliferieren könnten und dann eben, da sie vorher der gleichen Noxe ausgesetzt waren wie die Knochenmarkzellen, dieselben Abnormitäten aufweisen wie diese.

- Histologie der Leber

Die Veränderung, die bei Myelofibrose in der Leber gefunden werden können, teilt Andreasen (1) in vier histologische Gruppen ein:

- 1.) Hämpoese in den Sinusoiden, keine Infiltration der periportalen Felder
- 2.) wie in 1.), plus Infiltration der periportalen Felder durch Lymphozyten und Plasmazellen
- 3.) keine sinusoidale Hämpoese, aber Infiltration wie in 2.)
- 4.) keine Hämpoese, aber Infiltration sinusoidal und periportal.

- Histologie der Lymphknoten

Hier gibt es neben normalen Befunden, die die Mehrzahl darstellen, in seltenen Fällen nach Andreasen vier Gruppen:

- 1.) ausgeprägte Hämpoese
- 2.) leichte Hämpoese plus Retikulumzellen
- 3.) nur viele Retikulumzellen
- 4.) Retikulumzellen und Fibrose

- Ätiologie der Knochenmarkfibrose

Hinsichtlich der Ätiologie sind sich die Autoren trotz aller Differenzen über eine Einteilung in primäre, idiopathische und sekundäre reaktive Formen einig. Die sekundären Formen unterteilen Wyatt und Sommers (93) unter klinischen Gesichtspunkten in Folgen von:

- 1.) äußeren, toxischen Schäden
- 2.) Leberfunktionsstörungen (aromatische Stoffe aus dem intermediären Stoffwechsel)
- 3.) Endokrinopathien
- 4.) chronischen Hämorrhagien und Hämolyse
- 5.) kardiovaskulären Erkrankungen

Nach Hunstein (46) können zum Syndrom "Myelofibrose" führen:

- 1.) Primär proliferative Prozesse: Leukämieartige Prozesse
selten: Osteomyeloretikulosen
- 2.) Reaktive Prozesse: a) interstitielle Myelitis "Rohr"
b) Ersatznarben nach Therapie z.B. Purinethol,

Myleran, Urethan, Bestrahlung

Zu 2b berichtet Hunstein (45) von Fibrosebildungen nach Mylerantherapie bei chronisch myeloischer Leukämie. In diesem Zusammenhang erwähnt er auch einen Fibrosefall ohne Myleran, der einige Jahre zuvor eine Milzbestrahlung erhalten hatte und bei der nachfolgenden Knochenmarkpunktion deutliche Markentvölkerung mit gleichzeitigem Marködem gezeigt hatte. Allerdings könne man nie die spontane Entstehung einer sekundären Fibrose ausschliessen, wie sie schon Bernard 1936 als "ostéosclérose post-leucosique" beobachtet und beschrieben habe.

Hunstein (45) sieht eine wiederholte Entparenchymatisierung mit gleichzeitiger Gewebsinsudation als Voraussetzung für die Entstehung einer exogen ausgelösten "Begleitfibrose" an, wie sie etwa nach Myleran, Bestrahlung oder ähnlichem auftritt.

Andreasen (1) stellt für die allgemeine Pathogenese der Myelofibrose die - multipotente - Retikulumzelle in den Mittelpunkt, die, mit Peace (68), den Ursprung aller bei dieser Erkrankung betroffenen Zellarten darstelle. Ein unbekanntes Agens wirke auf diese Retikulumzellen ein und bewirke im Knochenmark ihre Proliferation und Differenzierung in Fibroblasten, Hämozytoblasten und eventuell Osteoblasten. Unter weiterer Einwirkung der "unknown action" komme es zum Zusammenbruch der Zellen, zu Infarkten, Nekrosen und, im weiteren, zur Fibrosierung (siehe auch nachstehendes Schema). Andreasen denkt neben anderem an allergische Ursachen. Er führt an als Beispiele die Eosinophilie bei manchen Benzolschäden, das gemeinsame Auftreten von Blutkrankheiten und Asthma bei einigen Patienten und die Arbeit Pentimallis (69), der nach Injektion verschiedener Proteine (intra-peritoneal und intravenös) Blut- und Markveränderungen im Sinne einer Myelofibrose fand. (Pentimalli hielt diese Veränderungen selbst allerdings für toxische Effekte.) Andreasen erwähnt weiter eine Arbeit Transbøls (89), der durch Injektion von Hühnereiweiß (intramuskulär und intravenös) Knochenmarkfibrosen in Kaninchen erzeugen konnte, diese jedoch selbst als Folge von durch Gefäßverschlüsse entstandenen Nekrosen verstanden wissen will. Dass diese Erklärung nicht genügt, belegt Andreasen mit dem Einwand, daß neben

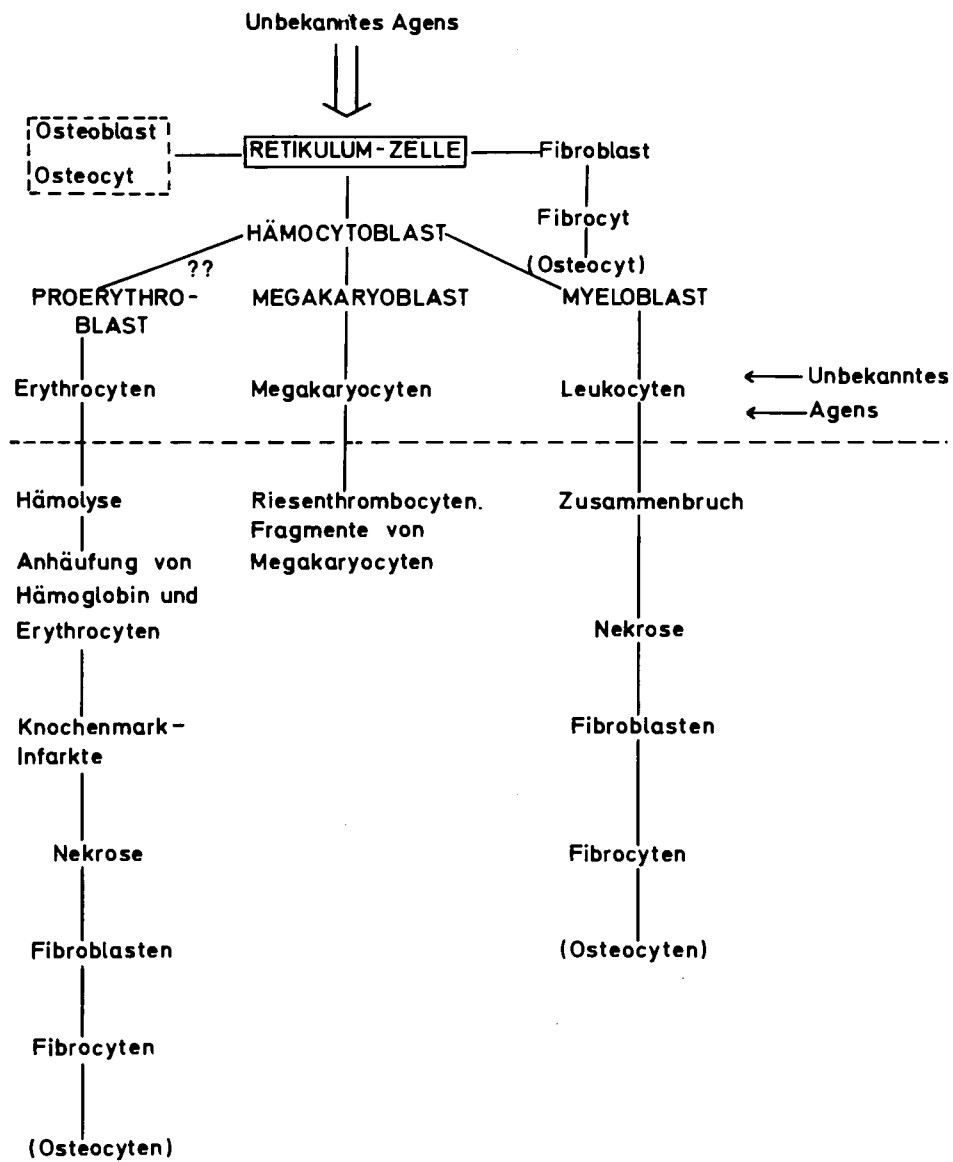


Abb. 2

Schema zur Entstehung der Osteomyelofibrose beim Menschen
(nach Andreasen, s. Literaturverzeichnis No. 1).

den Nekrosefeldern auch noch Fibroblasten und Fasern im zellulären Mark verstreut vorkommen (wie es analog auch in unseren experimentellen Befunden beobachtet wurde), daß oft myeloische Metaplasie in einer Milz bei noch hyperplastischem Knochenmark gesehen wird und daß bei manchen Myelofibrosen Milzen gesehen werden, die zwar keine Hämopoese, wohl aber vermehrt Retikulumzellen aufweisen.

Auf die histopathogenetischen Vorstellungen Stodtmeisters und Sandkühlers (83) hinsichtlich der Entwicklung einer Myelofibrose wurde bereits weiter oben eingegangen. In diesem Zusammenhang seien noch Vorstellungen angeführt, die von Apitz (3) entwickelt wurden. Apitz hat eine besondere Entzündungsform charakterisiert ("seröse Entzündung"), bei der infolge einer Permeabilitätsstörung gewisser Gefäßprovinzen eiweißhaltige Blutflüssigkeit aus den Kapillaren in das Gewebe übertritt. Da dieses proteinhaltige Exsudat sich gewebseindlich verhält, resultieren schwere Schäden an Funktion und Struktur der befallenen Partien. Am Beispiel der Ostitis deformans Paget (als einer chronischen serösen Ostitis, bzw. Osteomyelitis) zeigt Apitz den wichtigen Weg von der serösen Entzündung zur Fasermarkbildung.

Bei aller Verschiedenheit der Ätiologie, sei sie nun allergischer, toxischer, therapeutischer, allgemein anoxischer oder entzündlicher Natur, scheint es also das Exsudat zu sein, daß ganz allgemein den morphologisch-strukturellen Ausgangspunkt für die Entstehung einer Myelofibrose liefert.

2.2. Allgemeines zur Knochenmarkstruktur und zur Transfusion von Knochenmarkzellen

Da bei den Vorgängen im Knochenmark nach Bestrahlung und Übertragung allogener Knochenmarkzellen die Markstrukturen und immunologische Faktoren eine wesentliche Rolle spielen, soll im Folgenden kurz auf diese Gegebenheiten hingewiesen werden, zumal sie für Pathogenese und Ätiologie der Osteomyelofibrose in unserem Versuchsmodell von Bedeutung sein werden.

- Zur Struktur des Knochenmarks

Das Parenchym ist in ein retikuläres Gerüst gebettet und wird von einem kapillaren System, das aus den Vasa nutritia gespeist wird, und einem abführenden Sinussystem durchzogen. Dieses Sinussystem baut sich auf aus Sinus, die von den langgestreckten arteriellen Kapillaren rechtwinklig abgehen und sich zu Sinus 2. Ordnung vereinigen. Diese laufen gabelförmig zu Sinus 1. Ordnung zusammen. Letztere münden sodann rechtwinklig in den Zentralsinus ein (33a).

Neben den strahlenbedingten Zellbildungsstörungen (Mitosehemmung) und dem Zellzerfall (Pyknonekrose) sind es vor allem Läsionen der Gefäßwände, die, zumindest in der initialen Phase des Strahlensyndroms (85), das Bild im Knochenmark nach Bestrahlung bestimmen.

Die Kapillarsensibilität gegenüber ionisierenden Strahlen ist schon 1921 von David (28) und von anderen gezeigt worden. Bestrahlung führt zu Permeabilitätsstörungen, Kapillarbrüchigkeit und zum Übertritt geformter Partikel.

Bargmann (6) weist schon 1930 auf die besondere Empfindlichkeit der Sinuswände hin, die auf "toxische Einwirkungen" sehr leicht mit einer "Durchbrechung ihrer histiozytären Wandmembran" antworten. Ödem und Hämorrhagie sind also auf eine solche disorganische Störung zurückzuführen.

- Allgemeine Probleme der Transplantation von Knochenmarkzellen

Anlässlich verschiedener Unfälle, bei denen es zur Ganzkörperexposition gegenüber ionisierenden Strahlen kam, fand sich (33), daß bei Patienten mit einer Ganzkörperdosis von 200 bis 400 r noch eine spontane Regeneration der Hämoese möglich ist, daß bis zu 500 r eine Therapie mit Blutkonserven, Thrombozytenkonzentraten und ähnlichem ("replacement-therapy") Erfolg verspricht, daß aber Dosen jenseits 1000 r absolut tödlich sind. In dem Bereich zwischen 500 r und 1000 r besteht die einzige Behandlungsmöglichkeit in der Transfusion von Knochenmarkzellen.

Der Schutzeffekt von Injektionen hämopoetischer Zellen ist seit längerer Zeit bekannt. Jacobson (aus 36) fand 1949, daß eine bleibgeschützte Milz bei Strahleninsulten die Überlebenschancen erhöht. Congdon (22) und Lorenz (56) beschreiben 1952, daß die Übertragung ungeschädigter homogener Markzellen in ganzkörperbestrahlte Ratten und Meerschweinchen eine höhere Überlebensrate und schnellere Regeneration zur Folge hatte. Fliedner (36) beschreibt die morphologischen Effekte in Tierexperimenten so: Im bestrahlten Knochenmark eines nicht transfundierten Tieres finden sich am 3. Tag nach Bestrahlung Hämorrhagie, Ödem und zerstörte Gefäßstruktur. Ein behandeltes Tier zeigt unter sonst gleichen Bedingungen herdförmige Regenerate, sowie stellenweise Hyperplasie der Endothelien des Sinus centralis. Nach 6 Tagen konfluieren diese Herde bereits, ein Vorgang der bei nicht behandelten, überlebenden Tieren erst nach 12 - 14 Tagen auftritt. Die Transfusion unterdrückt außerdem in den ersten 2 bis 3 Wochen die Vermehrung von Retikulum- und Plasmazellen, wie sie sonst bei blosser Bestrahlung beobachtet werden.

Die Zugehörigkeit der regenerierenden Zellpopulationen zum Spender-typ wurde auf verschiedene Weise nachgewiesen. Ford und Mitarbeiter (37) wiesen 1956 in Mäuseversuchen in 100 % der Mitosen im Empfänger Chromosomen-Translokationen nach, die für den Spendertypus charakteristisch waren.

Nowell und andere (63) transfundierten ALP-positive myeloische Zellen von Ratten in bestrahlte Mäuse, deren myeloische Zellen normalerweise ALP-negativ sind, und fanden, daß die regenerierenden Zellen ALP-positiv waren.

Andere Möglichkeiten sind Isotopenmarkierung (34) und immunologische Prozeduren (29), auf die später noch eingegangen werden soll.

Der Langzeiterfolg einer Marktransfusion hängt sehr wesentlich von der Auswahl der Spender ab. Von grundsätzlicher Bedeutung ist der Grad der genetischen Verwandtschaft zwischen Spender und Empfänger, wie van Bekkum (10) betont. Demzufolge ist die Verwendung auto- oder isologen Knochenmarks als die beste Lösung zu bezeichnen.

Nimmt man allogenes Material, wie es für die Therapie an Menschen am wahrscheinlichsten ist, oder gar heterologes, so kommt es über kurz oder lang zur Entwicklung einer immunologischen Reaktion, die unter Namen wie "secondary disease", "runt disease", "homologous disease" oder "graft-versus-host-reaction" (GVHR) bzw. "host-versus-graft-reaction" (HVGR) (10) bekannt ist. Dieses secondary-disease (SD) bezeichnen Cole und Garver (21) als kontinuierliches, gegenseitiges, dynamisches Reagieren von Zelle zu Zelle zwischen Spender- und Empfängerzellen mit der Folge, daß beide, die lymphoiden Zellen der Spender und Empfänger getötet werden. Die Folge ist lymphatische Atrophie, die als Charakteristikum, zumindest für das SD bei Ratten, auch von Balner (5) und von van Putten (73) betont wird.

Van Bekkum (11) führt das SD auf eine kombinierte Wirkung von graft-versus-host-reaction, langdauernden Bestrahlungsfolgen und einer verlängerten Abwehrschwäche gegen Mikroorganismen zurück.

Ob ein Zelltransplantat primär und auf die Dauer angeht und in enger Relation damit die Frage, ob sich ein secondary disease entwickelt oder nicht, hängt von mehreren Faktoren ab (5, 12, 13, 73, 90):

1. Vom Grad der Bestrahlung des Empfängers und damit dem Grad der Unterdrückung bzw. Zerstörung des Empfänger-Immun-Systems und der Regenerationsfähigkeit der Zellen allgemein.
Von der Strahlenempfindlichkeit des Empfänger-Immun-Systems und einzelner Gewebe.
Vom Intervall zwischen Bestrahlung und Transplantation (73).
2. Von der genetischen Verwandtschaft (Kompatibilität) zwischen Spender und Empfänger. Dieser Faktor ist vor allem für das Andauern der Wirkung von Bedeutung.
3. Von der Zellzahl des Transplantates. Allgemein gilt, daß steigende Zellzahlen die Überlebenschancen, aber auch die secondary disease-Intensität (bei Fremdmaterial) erhöht. Es scheint ein konstantes Verhältnis zwischen Gesamtzellzahl des Transplantates und dem Gehalt an "Stammzellen" zu bestehen, wie Till und Mc Culloch (88, 59) mit ihrer "colony-forming-unit"-Methode und Puck/Marreus (72) in einer ähnlichen Methode zeigen.

4. Des weiteren scheint der Gehalt an lymphatischen Zellen die Effektivität des graft-Plantates zu bestimmen (12, 5).
5. Von besonderer Bedeutung ist das Vorhandensein von sogenannten ICC (immunological-competent-cells), Zellen also, die in der Lage sind, fremdes Gewebe als solches zu erkennen und immunologisch darauf zu reagieren. Diese Zellen bestimmen im wesentlichen das Auftreten und den Verlauf eines secondary-disease.

Aus dem oben gesagten ergeben sich zwanglos die Möglichkeiten einer qualitativen Verbesserung des Transplantates. Und zwar durch:

1. Die Anreicherung von "Stammzellen", wie man sie entweder durch Vorbestrahlung der Spender mit mittleren Dosen und damit Stimulierung des an sich ruhenden "Stamm-Zell-Reserve-Pools" (39) oder durch Filtrieren der Suspension, mit deren Hilfe z.B. Cudkowitz (25) eine Anreicherung von kleinen und mittleren lymphatischen Zellen und gleichzeitig eine verbesserte Repopulation in Mäuseexperimenten gelang.

Die 2. Möglichkeit ist die Ausschaltung oder Unterdrückung der ICC, die man auf unterschiedliche Weise zu erreichen suchte: z.B.

1. Konservierung bei niedrigen Temperaturen (13, 34). Dabei werden differenzierte Zellen, vor allem ICC, mehr zerstört als Stammzellen oder hämopoetische Zellen.
2. Bestrahlung der Suspension mit demselben Effekt wie in 1. (21).

3. Verwendung "gepoolter" Suspensionen, d.h. Marksuspensionen von mehreren Spendern. Mathé und Mitarbeiter (58) fanden in Mäuseversuchen mit Hilfe von Hauttransplantaten, daß zwar die besten Einzelspender von Knochenmarkzellen zu besseren Ergebnissen führten als die besten Zelltransfusionen aus einem Spendergemisch (Pool), daß aber die Transfusionen aus einem Zellgemisch stets zu besserem Angehen des Hauttransplantates, was die Existenz eines Chimerenstatus beweist, als bei den inkompatibelsten Einzelspender/Empfängerkombinationen führen. Es liegt also bei Einzelspendern hinsichtlich der Kompatibilität mit dem Empfänger ein Entweder-oder-Effekt vor, während die bessere statistische Chance bei gepoolten Suspensionen

liegt. Vor allem bleibt die Quote der persistierenden Chimeren bei gepoolt transfundierten Tieren höher als bei solchen mit Zellen von Einzelspendern. Mathé (58) schliesst daraus eine sekundäre Auswahl zugunsten des verträglichsten Spenders innerhalb eines allogenen Pools.

4. Verwendung embryonaler Leberzellen (52, 71). Lengerová (52) konnte durch Verwendung solchen Materials eine secondary-disease-Entwicklung bei Mäusen vermeiden. Die geringe Fehlerquote erklärt sie mit einer Erholung des Empfänger-Immun-Apparates. Sie zieht aus ihren Ergebnissen folgende indirekte Schlüsse:

- a) Die immunologischen Fähigkeiten des überlebenden Empfängertieres sind Spender-spezifisch und rühren von den im embryonalen Transplantat enthalten gewesenen lymphoiden Zellen her.
- b) Die Kompatibilität zwischen Empfänger (host) und ICC, des allogenen Transplantates (homograft), die in engem Kontakt mit den Empfänger-Antigenen heranreiften, ist auf die immunologische Toleranz zwischen Transplantat und Empfänger zurückzuführen. Lengerová erhält einen sogenannten universell-immunen Empfänger, der ein "at random" ausgewähltes Hauttransplantat toleriert, indem sie ihm eine Suspension aus einer möglichst großen Zahl von embryonalen Spendern, Minimum 40-50 Tiere, transfundierte.

5. In engem Zusammenhang mit der Verwendung embryonaler Leber-Zellen steht eine weitere Methode zur Ausschaltung von Immunreaktionen: die Immunisierung der Empfänger. Davis und Cole (29) machten Transfusionsversuche mit verschiedenen kombinierten Mäusestämmen in mehreren Schritten, mit deren Hilfe sie die Immunisierung und Toleranzentwicklung gegen Zellen bestimmter Stämme, und damit natürlich auch die Zugehörigkeit des im bestrahlten Empfänger wiederaufgebauten Immunapparates zu einem bestimmten Spendertyp, nachweisen konnten. Sie gingen wie folgt vor:

- a) LAF₁-Mäuse wurden mit 850 r bestrahlt und bekamen Knochenmarkzellen von C₃H-Mäusen übertragen. Diese Tiere waren tolerant gegen LAF₁- und gegen C₃H-Hauttransplantate. Es lag also eine

Chimere vor, die z.B. Hauttransplantate von BALB/c oder DBA/2-Mäusen abstieß.

- b) Übertragung von LAF₁-Lymphknotenzellen in die LAF₁/C₃H-Chimere führte zur Abstossung von C₃H-Hautlappen.
- c) Übertragung von bestrahlten Lymphknotenzellen in dieselbe Chimere zerstörte die Toleranz gegen C₃H-Hautlappen nicht.
- d) C₃H x DBA/2F₁-Hybride, die subletal bestrahlt wurden und Lymphknotenzellen obiger LAF₁/C₃H-Chimeren transfundiert bekamen, starben. Das beweist die Anwesenheit von immunologisch aktiven C₃H-Zellen in der Chimere, denn dieselbe Reaktion tritt ein, wenn man obigen Hybriden die Zellen eines C₃H-Stammes injiziert.

6. Eine sehr häufig erprobte Möglichkeit, die ICC und mit ihnen Immunreaktionen zu unterdrücken, liegt in der Chemotherapie der Spender, eventuell mit Bestrahlung kombiniert (9, 14, 20, 60, 67, 77, 80, 81, 87, 91). An dieser Stelle sei zur Veranschaulichung des Wirkungsmechanismus auf zwei Autoren eingegangen:

Wie Sterzl schreibt (80), verbleibt ein Antigen für wenigstens eine Woche in den Geweben. In dieser Zeit proliferieren die mesenchymalen Zellen (Stammzellen) normal weiter. Das führt dazu, daß die neu entstehenden Zellen durch Antigene stimuliert werden. Dieses stellt die "induktive Phase" der Antikörperbildung dar, während der noch keine serologisch nachweisbaren Antikörper zu finden sind. Parallel dazu, nur um die Dauer der Induktionsphase verschoben, befinden sich Zellen, die kurz zuvor in Kontakt mit dem Antigen waren, in der "produktiven Phase".

Sterzl untersucht, ob das Ribonucleoprotein, das in der "produktiven Phase" Antikörper-Proteine baut, selbst in der "induktiven Phase" entstanden ist. Abgesehen vom Zeitpunkt, zu dem die Therapeutika wirksam werden, ist von Interesse, an welchem Punkt des Zellstoffwechsels sie ansetzen. Sterzl injizierte jungen Kaninchen Milzzellen i.p. + Mikroorganismen von Hitze-inaktivierten Brucella-suis-Antigenen und gleichzeitig 6-Mercaptopurin bzw. andere Substanzen s.c. für mehrere Tage. Damit wird eine vollständige Toleranz ohne Antikörperbildung erzielt. Dieser Erfolg bleibt aus, wenn statt von normaler

Milz die Zellen immunisierter Tiere, die also schon Antikörper bilden, verwendet werden. Daraus folgert, daß 6-Mercaptopurin und ähnliche Substanzen in der Induktionsphase wirksam sind.

Da Sterzl mit Mitosehemmern wie Colchicin oder Actinomycin C (81) keinerlei Effekte erzielte, nimmt er an, daß zur Antikörperbildung wohl keine Zellklonusbildung vorausgehen muß. Also besteht die Wirkung wohl in einer Beeinflussung des intrazellulären Stoffwechsels.

Berenbaum (14) beschreibt eine ähnliche Wirkung für Cortison. Vor allem 6-Mercaptopurin wirke auf die DNS-Synthese, viel weniger dagegen auf die Proteinsynthese, so daß die Induktionsphase wohl durch eine Änderung im DNS-stoffwechsel bewirkt wird.

Zur Einkreisung der zeitlichen Dauer der "induktiven Phase", wandte Sterzl verschiedene Zeitabstände zwischen Antigen- und 6-Mercaptopurin-Applikation an. Bei 24-Stunden-Intervall erhielt er noch volle Inhibition der Antikörperbildung. Gab er die Substanz erst 72 Stunden nach Antigen-Gabe, lag bereits eine geringe Antikörperbildung vor. Also liegt die entscheidende "induktive Phase" einer Antigen-stimulierten Zelle zwischen 24 und 72 Stunden.

Schwartz und Dameshek (77) machten Kaninchenversuche und zeigten, daß die Injektion von menschlichem Serum-Albumin-Jod 131 (HSA) bei gleichzeitiger Applikation von 6-Mercaptopurin über 14 Tage nicht zur Antikörperbildung führte. Auch nach einer 2. und 3. Injektion von HSA fand keine Antikörperbildung statt, obwohl kein 6-Mercaptopurin mehr gegeben wurde. Auf eine gleichzeitig mit der 2. HSA-Injektion erfolgte 1. Injektion von bovinem Serum-Albumin (BSA) erfolgte spezifische Anti-BSA-Antikörperbildung, die bei einer 2. BSA-Injektion noch anstieg, während der Anti-HSA-Antikörpertiter gleich null blieb. Die Autoren sprechen von einer "aktiv erworbenen Toleranz", wie sie sich normalerweise im Embryonal- und Neugeborenen-Status entwickelt und meinen damit "ein induziertes, spezifisches, zentrales Versagen der Immunreaktion, verursacht dadurch, daß das Tier vor der Reifung der Fähigkeit zur Immunreaktion einem Antigen-Stimulus ausgesetzt wurde". Sie nehmen an, daß die Stoffwechselaktivität,

die durch Antigensubstanzen in antikörperbildenden Zellen provoziert wird, und die Stoffwechsellleistung für die Produktion von Antikörper-Globulin einen "information storing device" (etwa: "Informationssammelstelle") einrichten. Diese doppelte Stoffwechselreaktion könne durch Antimetaboliten gehemmt werden. Wie der Versuch zeigt, ist nicht die Antikörperbildung generell gestört, sondern das "Wiedererkennen" eines bestimmten Antigens, so daß es normal metabolisiert wird. Möglicherweise speichern diese "Normalstoffwechselwege" (Nuklein-Säure-Code?) ihre neu gewonnene Information und stoffwechsels das betreffende Antigen auch bei einer zweiten Injektion wieder "normal" statt es als Antigen zu erfassen. Diese letzteren Wege scheinen gegen 6-Mercaptopurin resistent und im embryonalen Wesen für nicht körperfremde Substanzen - vollentwickelt zu sein. Die Identität der sensibilisierten Zellen, die für Allergien vom verzögerten Typ, also auch für die Transplantationsimmunologie, wichtig sind, ist nach Loutit (57) noch nicht sicher geklärt. Sie werden aber wohl im lymphatischen Gewebe produziert und sind morphologisch mit den normalen Lymphozyten identisch.

Wenn man dem lymphatischen Gewebe die obige Rolle einmal zuerkennen will, so sind die Befunde von Cole und Garver (21) wichtig, die fanden, daß sich lymphatisches Gewebe in 500 r bestrahlten und Milz-zelltransfundierten Mäusen nur langsam erholt und nach 22 Tagen noch kein funktionierendes Gewebe darstellt, auch wenn der Zellbestand normal aussehen kann. Erst 35 bis 47 Tage nach Bestrahlung ist eine solche Maus wieder in der Lage, auf die Injektion fremder Spender-Milzzellen zu reagieren.

Ob eine allogene oder heterologe Zelltransfusion im Empfänger zur Repopulation durch Spender-Typ-Zellen geführt hat, läßt sich durch Hauttransplantate und andere Methoden, wie oben gezeigt, nachweisen. Es ist jedoch oft schwierig zu unterscheiden, ob nur induzierte Regeneration, oder ob auch Spontanregeneration durch Empfänger-Typ-Zellen, namentlich bei isologen oder autologen Spendern, vorliegt, oder ob es sich sogar nur um Spontanregenerate handelt. Fliedner et al. (35) bezeichnen es als unwahrscheinlich, daß Blutregeneration,

die vor 7 bis 10 Tagen nach Transfusion beginnt, von echtem "graft" ausgeht. Sie halten es für wahrscheinlicher, daß transfundierte hämopoetische Zellen im Empfänger nur ihren Lebenszyklus vollenden und nicht in der Lage sind, permanent eine Knochenmark-Repopulation zu garantieren. Diese Aufgabe dürfte wohl eher von Stammzellen getragen werden. Nach Ansicht der Autoren dürften zur Auffüllung des Stammzell-Pools 7 bis 10 Teilungen nötig sein. Wenn man eine kurze Generationszeit von 12 Stunden annimmt, dauert diese Auffüllung 3 bis 5 Tage, erst dann könnte eine Differenzierung und Reifung beginnen. Hierfür würden weitere 5 bis 8 Tage verstreichen, bevor eine ständige Lieferung fertiger Zellen einsetzen könnte. Es würden also insgesamt etwa 8 bis 13 Tage vergehen, bevor Zellen in signifikanter Zahl in der Peripherie auftauchen. Ein Auftreten vor Ablauf dieser Zeitspanne würde also für eine Spontanregeneration sprechen.

Neben dem Nichtangehen einer Zelltransfusion, dem Entstehen einer permanenten Strahlen-Chimere und dem "Überbrückungseffekt" befristet teilungsfähiger Spenderzellen gibt es noch zwei weitere Schicksalsformen, die von Balner (4, 5) beschrieben werden. Balner zeigte in Rattenversuchen, daß nach Röntgenstrahlendosen von 950 oder 1000 r und Transfusion von Knochenmarkzellen in einer Zahl von mehr als 1×10^8 Zellen die Blutzellen in den Empfängertieren praktisch ausschliesslich vom Spender-Typ waren. Nach 900 r jedoch fanden sich häufig noch 6 Monate nach Bestrahlung nebeneinander Zellen sowohl vom Spender- als auch vom Empfängertyp.

Zuweilen sah er sogar völlige Rückkehr zu Empfängertypzellen (reverting) und zwar mit vermehrter Häufigkeit bei Tieren, die nur mit 775 - 875 r bestrahlt waren und/oder nur 1×10^8 oder weniger KM-Zellen übertragen bekommen hatten. Bei diesen Tieren traten nach 3 bis 4 Wochen Anämie und Leukopenie auf, ohne daß sie jedoch starben. Diese Tiere wiesen bei einer Prüfung in der 5. Woche nach Bestrahlung ausschliesslich Empfängertypzellen auf, während die restlichen Tiere derselben Versuchsgruppe vorwiegend graft-typzellen aufwiesen. Balner nannte die erstere Gruppe "reversals". Es kam auch vor, daß Tiere 3-4 Wochen nach Bestrahlung unter den obigen Anzeichen sowie Knochenmark- und Lymphknotenaplasie und zuweilen

extramedullärer Blutbildung starben. Es handelte sich um Tiere, bei denen das Knochenmarkstransplantat vorübergehend angegangen war und dann zugrunde ging. (delayed rejection)

Der Zeitpunkt der "delayed rejection" und des "revertings" liegt desto früher, je niedriger die Strahlendosis, respektive die Zahl der übertragenen Zellen ist.

In einer Ratte, die 1×10^8 Zellen bekommen hatte und zu einer Gruppe mit besonders hoher "delayed rejection"-Rate im 2. bis 3. Monat nach Transfusion gehörte, fand er eine fortgeschrittene Knochenmarkfibrose. Ihr lymphatisches Gewebe war meist atrophisch und zuweilen mit Fibrose kombiniert.

Auch Cole und Garver (21) beschreiben bei subletal bestrahlten Mäusen eine "delayed rejection".

Ford (aus 57) beobachtete in Mäusen nach anfänglichem Wiederaufbau des lymphatischen Gewebes von Spender-Typ-Zellen eine Umkehr dieser Zellen in Empfänger-Typ-Zellen, die oft mit strahlenbedingten chromosomalen Translokationen verbunden war, wobei jede Tochterzelle diese Anomalie zeigte. Der Umkehrprozess von Spender- zu Empfängertypzellen (reverting) muß kein immunologischer Prozess sein. Dasjenige hämopoetische System, das am besten der Umgebung angepaßt ist, ersetzt lediglich schrittweise das andere. (Barnes, Ford et al.7)

Es sei im weiteren noch eingehender auf die verschiedenen Möglichkeiten einer Toleranzbildung nach Bestrahlung und Übertragung allogener Knochenmarkzellen eingegangen. Balner (4) fand in einigen subletal bestrahlten Ratten, die zum Empfängerzelltyp zurückgekehrt waren, daß 50 % von ihnen ein Spendertyp-Hauttransplantat abstießen, während die andere Hälfte der Tiere ein solches Transplantat tolerierte, was auf eine Aufrechterhaltung der spezifischen Toleranz infolge der "Gedächtnisfunktion" des lymphatischen Systems auch bei Rückkehr zum Empfängerzelltyp - und damit auch nach Verschwinden des Antigens - hinweist. Toleranz ist also nicht unbedingt gleichbedeutend mit Existenz einer Spenderzelltyppopulation. Zum Nachweis

eines Chimerenstatus müßte also eigentlich neben der Hauttransplantationsmethode stets auch die serologische Typisierung der Zellen im Empfänger kommen.

Auch Michie, Woodruff, Zeiss (61) sowie Doria (31) erzeugten durch Injektion lebender Zellen in neugeborene Mäuse ständige Toleranz gegen diese Zellen, obwohl die Mäuse im Erwachsenenalter in der Mehrzahl Empfängertypzellen aufwiesen. Weiter kann es vorkommen, daß ein Hautlappen, der während eines Chimerenstatus appliziert wurde, bei einer Zellreversion die einsetzende Immunabwehr übersteht. Dies würde aber nicht exact die Existenz eines Toleranzstatus beweisen, denn ein zweiter Hautlappen desselben Spenders, der erst jetzt implantiert würde, würde abgestoßen werden (4). Auch ein geringgradiger Chimerismus garantiert nicht unbedingte Toleranz.

Das oben Gesagte zeigt die vielfältigen Variationsmöglichkeiten, die es zwischen der Art des Zelltypus im Empfänger und der Existenz bzw. der Abschwächung oder dem Verschwinden eines Toleranzstatus gibt. Es wurde auf die immunologischen Verhältnisse besonders eingegangen, weil sie für die spätere Interpretation der vorliegenden Befunde von Bedeutung sein können.

Experim.	Stamm	Empfänger		Spender		übertragene Zellen (Zellzahl in 10 ⁸)			Behandlung der Spenderzellen	Gemischt/1:1 Übertragung	Bestrahlung	Bemerkungen
		Sex	Gew.	Sex	Gew.	KM	Milz	LK				
C/1	Wistar	♀		♀		-	-	-	- Kontrolle	-	750 r	
A	"	♀	137	♀		-	-	-	30' Incub. 37°C	gemischt	750 r	
B	"	♀	137	♀	±120	0,75	(0,12-1,6)	-	2 h " "	"	750 r	
C	"	♀	130	♀	"	"	-	-	2 h " "	"	750 r	
D	"	♀	134	♀	"	"	-	-	30' "mit Actinomycin	"	750 r	
E	"	♀	126	♀	"	"	-	-	30' " mit Hydrocortison	"	750 r	
F	"	♀	137	♀	"	"	-	-	30' " mit Vincristin	"	750 r	
G	"	♀	135	♀	"	"	-	-		2	750 r	
C/2	Wistar	♀		♀		-	-	-	- Kontrolle	-	750 r	
A	"	♀	123	♀	±150	0,59	-	-	frisches KM o. Behandl.	gemischt	750 r	
B	"	♀	122	♀	"	0,69	-	-	2 h Incub. 37°C	"	750 r	
C	"	♀	130	♀	"	0,45	-	-	4 x Hydrocortison vivo	"	750 r	
D	"	♀	125	♀	"							
C/3	Wistar	♀		♀		-	-	-	- Kontrolle	-	750 r	
A	"	♀	121	♀	±150	0,7	(0,59-0,82)	-	frisches KM	gemischt	750 r	
B	"	♀	122	♀	"	0,7	(" ")	-	2 h Incub. 37°C	"	750 r	
C	"	♀	127	♀	"	0,81	(/,74-0,89)	-	6 x Hydrocortison vivo	"	750 r	
D	"	♀	123	♀	"				0,02 mg/gr			
C/3a	Wistar	♀		♀		-	-	-	- Kontrolle	-	750 r	
A	"	♀	130	♀	150	1	(0,5-1,47)	-	frisches KM	1:1	750 r	
B	"	♀	127	♀	150	0,62	(0,59-0,65)	-	2 h Incub. 37°C	1:1	750 r	
C	"	♀	138	♀	150	1,12	(0,77-1,34)	-	6 x Hydrocortison vivo	1:1	750 r	
D	"	♀	130	♀	150							
C/4 I	Wistar	♀		♀		0,53	-	-	frisches KM	1:1	750 r	
A	"	♀	145	♀	±150	0,132	-	-	" "	1:1	750 r	
B	"	♀	134	♀	"	0,026	-	-	" "	1:1	750 r	
C	"	♀	139	♀	"	0,005	-	-	" "	1:1	750 r	
D	"	♀	140	♀	"							
C/4II	Wistar	♀		♀		-	-	-	- Kontrolle	-	750 r	
A	"	♀	141	♀	±150	0,0092	-	-	Frishes KM	gemischt	750 r	
B	"	♀	143	♀	"	0,037	-	-	" "	"	750 r	
C	"	♀	146	♀	"	0,15	-	-	" "	"	750 r	
D	"	♀	155	♀	"	0,6	-	-	" "	"	750 r	
E	"	♀	142	♀	"	1,68	-	-	" "	"	750 r	
F	"	♀	141	♀	"							
C/4IIIA	Wistar	♀		♀		2	(0,87-3,26)	-	mehrfach Freund SRBC	1:1	750 r	
A	"	♀	147	♀	±150	1,75	(1,5-2,15)	-	mehrfach Freund	1:1	750 r	
B	"	♀	150	♀	"	1,52	(1,3-1,8)	--	einmal Freund + SRBC	1:1	750 r	
C	"	♀	157	♀	"	2,15	(1,45-2,7)	-	einmal Freund	1:1	750 r	
D	"	♀	158	♀	"							

Experim.	Stamm	Empfänger		Spender		übertragene Zellen (Zellzahl in 10 ⁸)			Behandlung der Spenderzellen	Gemischt/1:1 Übertragung	Bestrahlung	Bemerkungen
		Sex	Gew.	Sex	Gew.	KM	Milz	LK				
C/5	A	Wistar	o	163	-	-	-	-	-	-	750 r	
	B	"	o	166	±150	0,5-1,48	-	-	frisches KM	1:1	750 r	
	C	"	o	166	"	0,6-1,1	0,4-0,86	-	unbehandelte Zellen	1:1	750 r	
	D	"	o	172	"	0,7-2,4	-	-	60' inkubiert in 0,01kg Vincristin	1:1	750 r	
	E	"	o	158	♀	"	0,7-1,5	0,48-0,7	60' inkubiert in 0,01kg Vincristin	1:1	750 r	
C/6	A	Wistar	o	202	-	-	-	-	-	-	750 r	
	B	"	o	210	±150	0,56-1,2	-	-	unbehandeltes KM	1:1	750 r	
	C	"	o	191	"	0,72-1,7	0,65-2,07	-	unbehandelte Zellen	1:1	750 r	
	D	"	o	195	"	0,74-1,6	-	-	Vincristin vivo 0,05je/g	1:1	750 r	
	E	"	o	187	"	0,8-1,3	0,33-1,4	-	Vincristin vivo 0,05je/g	1:1	750 r	
C/7	A	Wistar	o	156	-	-	-	-	-	-	750 r	
	B	"	o	159	± 150	0,56-0,9	-	-	unbehandeltes KM	1:1	750 r	
	C	"	o	168	"	0,3-0,93	0,26-0,91	-	unbehandelte Zellen	1:1	750 r	
	D	"	o	153	"	0,6-1,2	-	-	Hydrocortison in vivo 0,02 mg/gr.	1:1	750 r	
	E	"	♀	150	♀	"	0,15-0,7	0,21-1,66	Hydrocortison in vivo 0,02 mg/gr.	1:1	750 r	
C/8 C/8 a	Wistar Sprague- Dawley	o o	200-250 200-250	- -	- -	- -	- -	- -	4x0,02mg/g.Hydrocortison 4x0,02mg/g.SoludecortinH	- -	- --	Versuche zur Erfas- sung der Cortison- wirkung auf KM-Zell- Zusammensetzung zu verschiedenen Zeiten nach Cortisoninjek- tion
C/9 I	A	Wistar	o	132	-	-	-	-	-	-	750 r	G: jeden 3. Tag nach Plasma mit Granu- locyten und Thrombo- cyten i.v. D: Decortin-Behand- te E: Empfänger F + G: 500 mg Strep- tomycin/L Trinkwas- ser
	B	"	o	135	♂	150-200	0,48	-	unbehandeltes KM	1:1	750 r	
	C	"	o	144	♂	"	0,48	-	6x Solu-Decortin H vivo je 0,02 mg/g.	1:1	750 r	
	D	"	o	139	♂	"	0,48	-	unbehandeltes KM	1:1	750 r	
	E	"	o	145	♂	"	0,48	-	6x Solu-Decortin-H vivo	1:1	750 r	
	F	"	o	±130	♂	"	-	-	-	-	750 r	
	G	"	♀	"	♂	"	-	-	-	-	750 r	

Experim.	Stamm	Empfänger		Spender		übertragene Zellen (Zellzahl 10 ⁸)			Behandlung der Spenderzellen	Gemischt/1:1 Übertragung	Bestrahlung	Bemerkungen
		Sex	Gew.	Sex	Gew.	KM	Milz	LK				
C/9II	A Wistar	♂	127	♂	-	-	-	-	-	-	750 r	In Gr. E Empfänger nach mit Solu-Decortin-H behandelt
	B "	♂	118	♂	150-200	0,48	-	-	unbehandeltes KM	8 Tiere gem.	750 r	
	C "	♂	115	♂	"	0,48	-	-		12 " "	750 r	
	D "	♂	120	♂	"	0,48	-	-		20 " "	750 r	
	E "	♂	114	♂	"	0,48	-	-		20 " "	750 r	
C/9IIIA	A Wistar	♂	120	♂	-	-	-	-	- Kontrolle	-	750 r	In Gr. E. Empfänger nach mit Solu-Decortin-H behandelt
	B "	♂	135	♂	130-200	0,48	-	-	6x Solu-Decortin-Hi.v. je 0,02 mg/gr. KG	8 Tiere gem.	750 r	
	C "	♂	139	♂	"	0,48	-	-	"	12 " "	750 r	
	D "	♂	137	♂	"	0,48	-	-	"	20 " "	750 r	
	E "	♂	137	♂	"	0,48	-	-	"	20 " "	750 r	
C/10	A Sprague-Dawley	♂	180-210	♂	-	-	-	-	- Kontrolle	-	800 r Co ⁶⁰	Ziel: Beschleunigtes secondary disease durch <u>sublethale</u>
	B "	♂	"	♂	180-230	0,48	0,057	0,057	unbehandelte Zellen	1:1	800 r Co ⁶⁰	
	C "	♂	"	♂	"	0,48	0,057	0,057	6x0,02 mg/gr KG Solu-Decortin-H	1:1	800 r Co ⁶⁰	
	D "	♂	"	♂	"	0,48	-	-	unbehandeltes KM	1:1	800 r Co ⁶⁰	
	E "	♂	"	♂	"	0,48	-	-	6x0,02 mg Solu-Decortin-H/gr.	1:1	800 r Co ⁶⁰	
	F "	♂	"	♂	"	-	0,057	0,057	unbehandelte Zellen	1:1	800 r Co ⁶⁰	
	G "	♂	"	♂	"	-	0,057	0,057	6x0,02 mg Solu-Decortin-H/gr.	1:1	800 r Co ⁶⁰	
C/11	A Sprague-Dawley	♀	+220	♂	±220				BSA-Immunisierung	1:1	850 r Co ⁶⁰	Versuch zur Erfassung der Übertragung von immunologisch "committed-cells" durch KM Übertragung
C/12	A Sprague-Dawley	♂	±150	♂	-	-	-	-	- Kontrolle	-	900 r Co ⁶⁰	Versuch misslang für Serientötung Gewebe für Histologie
	B "	♂	"	♂	±150	0,6	-	-	unbehandeltes KM	1:1	900 r Co ⁶⁰	
	C "	♂	"	♂	"	0,6	-	-	6x0,02mg Solu-Decortin-H/gr	1:1	900 r Co ⁶⁰	
	D "	♂	"	♂	"	-	-	-	- Kontrolle	-	900 r Co ⁶⁰	
	E "	♂	"	♂	"	-	-	-	-	-	-	
C/13	A Sprague-Dawley	♂	150-160	♂	-	-	-	-	- Kontrolle	-	900 r Co ⁶⁰	Versuch misslang Ziel: Serienamputation zur Früherfassung von Myelofibrose
	B "	♂	"	♂	170-180	0,6	-	-	unbehandeltes KM	gemischt	900 r Co ⁶⁰	
	C "	♂	"	♂	"	0,6	-	-	6x0,02 Solu-Decortin-H/gr	"	900 r Co ⁶⁰	
	D "	♂	"	♂	"	-	-	-	- Kontrolle	-	900 r Co ⁶⁰	

Experim.	Stamm	Empfänger		Spender		übertragene Zellen (Zellzahl in 10 ⁸)			Behandlung der Spenderzellen	Gemischt/1:1 Übertragung	Bestrahlung	Bemerkungen
		Sex	Gew.	Sex	Gew.	KM	Milz	LK				
C/14	A	Spargue	♂	220±30	-	-	-	-	- Kontrolle	-	750 r	z.T. mit Elektroly- ten behandelt. Ziel d. Versuchs: durch Serienamputa- tion zwischen 5.u. 25. Tag nach Früh- erfassung von Myelo- fibrose.
	B	Dawley	♂	"	♂	220±30	4,06	-	unbehandeltes KM	gemischt	750 r	
	C	"	♂	"	♂	"	4,06	-	unbehandeltes KM	"	750 r	
C/15	A	Wistar	♂	180	-	-	-	-	- Kontrolle	-	750 r	Ziel: wie in C/14
	B	"	♂	180	♂	180	0,5	-	unbehandeltes KM	gemischt	750 r	
	C	"	♂	120	♂	"	0,5	-	unbehandeltes KM	"	750 r	

Tabelle 1: Zusammenstellung der einzelnen Experimente
mit Details über die Versuchsbedingungen.

3. Material und Methoden

3.1. Versuchsbedingungen

In Tabelle 1 finden sich alle für die Versuchsanordnung wichtigen Angaben.

3.1.1. Tiermaterial

In der ersten Rubrik werden die Versuchsnummern angeführt, wobei jede Versuchstiergruppe z.B. C, D usw. aus je 8 Tieren bestanden hat. Insgesamt kamen 516 Tiere zur Auswertung.

In der zweiten Rubrik finden sich die Angaben über den Tierstamm. Für die meisten Untersuchungen wurden Wistar-Ratten aus der Zucht des Klinischen Strahleninstitutes von Prof. Stutz, Universität Freiburg, verwendet. In der späteren Phase dieser sich über etwa zwei Jahre hinziehenden Versuche wurden zusätzlich Untersuchungen an einem Sprague-Dawley-Tierstamm vorgenommen; in erster Linie mit der Frage, ob die Befunde, die dann schon sichtbar wurden, bei den Wistar-Ratten vielleicht stammspezifisch wären oder ob sie auch bei anderen Versuchstierstämmen im Prinzip aufzufinden sind. Die Tiere wurden zu je 8 in Plastik Käfigen mit Humus oder Holzsträu gehalten und bekamen Pressfutter und Leitungswasser ad libitum.

In einer dritten Rubrik sind das Geschlecht und das mittlere Gewicht der Empfänger jeder Versuchstiergruppe angegeben. Daraus geht hervor, daß für die meisten Untersuchungen weibliche Empfängertiere verwendet wurden, wobei das Gewicht etwa zwischen 150 und 200 gr lag.

In der vierten Spalte ist die Herkunft der transfundierten Knochenmarkzellen angegeben. Als Spendertiere wurden überwiegend weibliche Tiere genommen. Das mittlere Gewicht der Spender lag ebenfalls bei 150 Gramm.

3.1.2. Suspensionen

In der 5. Rubrik der Tab. 1 ist angegeben, welche Organzellen

und wieviele im Durchschnitt pro Empfänger übertragen wurden. Daraus geht hervor, daß die meisten Untersuchungen mit transfundierten Knochenmarkzellen gemacht worden sind. In einigen Kontrollfällen wurden auch Milz- oder Lymphknotenzellen übertragen. Die Zahl der transfundierten Knochenmarkzellen lag meist zwischen $0,5 \times 10^8$ und 2×10^8 . In einzelnen Versuchen waren es auch 0,005 bzw. $4,5 \times 10^8$ Zellen.

Die Suspensionen aus Knochenmark- bzw. Milz- und Lymphknotenzellen wurden wie folgt hergestellt:

Spendertiere werden durch Äthernarkose und Strecken der Halswirbelsäule getötet. Ein anschliessendes Bad in 70 %igem Alkohol gewährleistet eine grobe Oberflächendesinfektion und verhindert eine Verunreinigung während der folgenden Arbeitsschritte durch herumfliegende Rattenhaare. Das Fell wurde sodann manuell über Kopf und Hinterfüsse der Ratte abgezogen. Vorder- und Hinterbeine gelangten nach ihrer Ablösung vom Rumpf in Wasserstoffsuperoxyd, wo sie weiter von Oberflächenkeimen befreit wurden. Anschliessend - von diesem Schritt an wurde mit steriler Bekleidung, Kopftüchern, Mundschutz und sterilem Gerät gearbeitet - wurden die Knochen nach einem Bad in sterilem Aqua bidest. von Muskulatur und Fasern befreit, die Knochenmarkhöhle eröffnet und mit 20-ccm-Spritzen in Gefässe mit TCM-199 ausgeblasen. Zur Entfernung von Koagulaten und feineren Aufschwämmung der Zellverbände wurde das Zell-TCM-199-Gemisch durch Kanülen abnehmenden Kalibers aufgesogen bzw. gespritzt. Wenn die Suspensionen durch kleinste Kanülen passten, ohne zu Verschlüssen zu führen, wurde ihr Zellgehalt im Coulter-Counter bestimmt und die Suspension durch Zugabe von weiterem TCM-199 auf etwa 1 ml pro Tier standardisiert. Ausstriche der Suspension dienten der Feststellung der Zellzusammensetzung und ihrer Mitosehäufigkeit. Die Keimfreiheit der Suspensionen wurde durch bakteriologische Kontrollen nachgewiesen. Der für die Qualität der Zellsuspension entscheidende Zeitraum vom Ausblasen der Knochenmarkhöhle bis zur Injektion betrug durchschnittlich 2 bis 3 Stunden. Die Suspension wurde in dieser Zeit in sterilen und geschlossenen Gefässen bei Raumtemperatur aufbewahrt, um zu starkes Ausfallen von DNS, das mit Emboliegefahr

verbunden wäre, zu vermeiden. Zur intravenösen Injektion, die ohne Anästhesie durchgeführt wurde, gelangten die Zellen durchschnittlich etwa 12 Stunden nach Bestrahlung. An Milz- bzw. Lymphknotenzellen wurden im Durchschnitt $0,1 \times 10^7$ respektive $0,5 \times 10^8$ Zellen injiziert.

3.1.3. Vorbehandlung der Zellen

Tabelle 1 zeigt in der 6. Spalte, in welcher Weise die Spenderzellen vorbehandelt wurden. Bei manchen Tieren wurde die immunsuppressive Wirkung von Chemotherapeutika (Vincristin, Dehydrocortison, Solu-Decortin H, Actinomycin C) sei es in vivo (Vorbehandlung der Spendertiere) oder in vitro (Vorbehandlung der fertigen Suspensionen) getestet, bei anderen Tieren die Wirksamkeit bloßer Inkubation der Suspensionen über verschiedene Zeiträume erprobt. Bei wieder anderen Tieren sollte mit Hilfe der Immunisierung der Spender mit Hammelerythrocyten (SRBC) - zum Teil unterstützt durch Beigabe von Freund's Adjuvant - untersucht werden, inwieweit Zellen einer Knochenmarksuspension in der Lage sind, immunologische Informationen zu übertragen.

Als Parameter für die Wirksamkeit dieser Methoden wurde die Entwicklung und der Verlauf eines "secondary disease" mit den von Balner (5) angegebenen Charakteristika (Leukocytose, Eosinophilie, Hautveränderungen, Gewichtsverhalten, Haarausfall, Infekte, Organnekrosen - vor allem der Leber) herangezogen.

In der 7. Rubrik wurde angegeben, ob es sich um eine Knochenmarkszellsuspension gehandelt hat, bei der mehrere Spender in einer Suspension gemischt ("pooled") wurden oder ob eine sog. 1:1-Übertragung stattfand, was bedeutet, daß das Mark eines einzelnen Spendertieres in einen Empfänger übertragen wurde.

3.1.4. Bestrahlung

In der 8. Rubrik der Tab. 1 ist die Strahlendosis angeführt, mit

der die Empfängertiere ganzkörperbestrahlt wurden.

Als Strahlenquelle wurde für die Versuche C1/1 bis C1/7 und C1/9 eine Röntgenapparatur Siemens-Stabilipan mit folgenden technischen Daten benutzt: 10m Amp., 250 k V, Filter: 1mm Kupfer, FA 75 cm, Messkammer N Nr. 18340, Messkopf 22540, Dosisleistung 29 r/min.

Bei der Bestrahlung wurde, um durch Netzschwankungen bedingte Bestrahlungsschwankungen gleichmässig auf alle Versuchsgruppen zu verteilen, eine Verteilung der zu je 8 bestrahlten Tiere nach Wahrscheinlichkeitskurven aus der Sammlung wissenschaftlicher Tabellen Geigy - at random - durchgeführt. 900 r Monitorosis entsprachen 750 r Körperdosis, mit Ionisationskammer gemessen. Test- und nebenher geführte Kontrollgruppen ergaben bei 750 r Ganzkörperdosis eine LD 100 von 10 Tagen.

Für die Versuche C1/10 bis C1/13 kam eine Co^{60} -Quelle (Theratron C 2 der Atomic Energy of Canada ltd., Lizenz bei Ch.F. Müller GmbH) zur Anwendung. Vorversuche ergaben, daß alle Versuchstiere innerhalb von 10 Tagen ad exitum kamen, wenn die Ganzkörperdosis 850 bis 900 r betrug. Bei 800 r war die Mortalität bei unbehandelten Tieren schon erheblich niedriger. Einige Tiere überlebten mehr als 30 Tage.

Es wurden je 8 Tiere zugleich bestrahlt, von denen je 4 Tiere übereinander eine Säule bildeten. Die Dosisleistung zwischen den beiden quer zur Strahlenachse hintereinander stehenden Säulen wurde für die Berechnung der Bestrahlungsdauer zugrunde gelegt und die beiden Säulen nach der Hälfte der Zeit um 180° gewendet.

In der neunten Rubrik der ersten Tabelle sind schliesslich besondere Bemerkungen aufgeführt, die für einzelne Versuche von spezieller Bedeutung waren.

3.1.5. Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Von den bestrahlten und transfundierten Empfängern wurden am 12.,

20., 30. Tag nach Bestrahlung, später wöchentlich, Blutbilder aus der Schwanzvene (Erythrozyten, Thrombozyten, Leukozyten, Differenzierung) angefertigt. Die Zahlen der roten und weißen Blutzellen wurden durch Doppelzählung mit elektronischen Zählern der Coulter Electronics, Florida, ermittelt. Die Thrombozyten wurden nach Vermischen mit Ammoniumoxalat und 25-minütiger Inkubation in feuchter Kammer mit Phasenkontrastmikroskop gezählt. (Methode nach Brecher/Cronkite) Wöchentlich 3-maliges Wiegen gab Aufschluß über die Schwere der Reaktion auf die Behandlung und den Grad der Erholung. Den Todesdaten entsprechend wurden Mortalitätskurven angefertigt. Moribunde Tiere wurden getötet. Tote Tiere wurden seziiert, und Lymphknoten (submandibulär, intestinal), Leber, Milz und Knochen wurden für die histologische Auswertung in 10 %-iges Formalin eingelegt.

3.2. Materialauswertung

3.2.1. Peripheres Blut

Die quantitative Auswertung der peripheren Blutbilder wurde für die getöteten und gestorbenen Tiere gemeinsam durchgeführt, da sich keine wesentlichen Unterschiede in beiden Gruppen ergaben. Es wurden die Differentialblutbilder erarbeitet und die einzelnen Zellreihen, sowie unreife Vorstufen im Blut in ihrer relativen und absoluten Verteilung bei nichtfibrotischen und fibrotischen Tieren verglichen. Des weiteren wurden diese Werte in Beziehung zu Organbefunden gesetzt. Während die osteomyelofibrotischen Tiere ein fixes Kollektiv darstellten, von denen jeweils das letzte vor dem Tode des Tieres entnommene Blutbild zur Auswertung herangezogen wurde, um eine möglichst enge Beziehung zwischen Blutwerten und dem jeweils festgestellten Fibrosegrad zu gewährleisten, wurden zu Vergleichszwecken Tiere ausgewählt, die über möglichst lange Zeiträume verfolgt worden waren. Die Vergleichstiere konnten bis zum 60. Tag nach Bestrahlung verfolgt werden, für die Fibrosetiere lagen Werte bis jenseits des 80. Tages vor.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß die ersten Blutentnahmen jeweils am 12. Tag nach Bestrahlung durchgeführt wurden, so daß die

Zeitspanne vor diesem Zeitpunkt nicht berücksichtigt werden konnte.

3.2.2. Histologische Präparate

3.2.2.1. Intervalleinteilung

Für die Bewertung der Organe sowie der Mortalitätsverhältnisse wurde eine zeitliche Einteilung in drei Intervalle vorgenommen, und zwar in ein:

- I Frühintervall bis zum 14. Tag nach Bestrahlung. In diesem Intervall kommen die unmittelbaren Strahlenfolgen zum Ausdruck, wobei andere Einflüsse, wie frühe Immunreaktionen, nicht ausgeschlossen werden können. Das
- II Mittelintervall reicht vom 15. bis 40. Tag nach Bestrahlung und Knochenmarktransfusion und stellt den Zeitraum dar, in dem sich im wesentlichen Immunreaktionen im Rahmen der Auseinandersetzung der Spenderzellen mit dem Wirtsorganismus abspielen. Das
- III Spätintervall umfasst die Zeit ab 41. Tag nach Bestrahlung und soll als Stadium der Spätfolgen, sei es in Form eines langsam verlaufenden secondary disease, einer Wiedererholung des Empfängerzellsystems oder später Infektionen, verstanden werden.

Lediglich für die quantitative Auswertung des Knochenmarkes wurden kleinere Intervalle gewählt zur genaueren Erfassung der Regenerationsverhältnisse.

3.2.2.2. Knochenmark - quantitativ

Die quantitative Erfassung des Knochenmarkes und der anderen Organe wurde mit dem "Sandkühler"-Okular von Leitz durchgeführt. Dieses Okular enthält eine in Planquadrate eingeteilte Fläche, die man mit Hilfe einer ebenfalls eingebauten Blende und eines Eichobjektives bei 10- und 25-facher Planvergrößerung auf jeweils $1/10 \text{ mm}^2$ auszuzählender Schnittfläche einstellen kann. Bei stärkerer Vergrößerung musste, da die Blende nicht genügend weit zu öffnen war,

der entsprechend kleinere Flächenausschnitt mit einem jeweils auszurechnenden Faktor auf $1/10 \text{ mm}^2$ korrigiert werden.

Vergrößerung	Faktor
10	1
25	1
40	1,56
54 Öl	2,64
90 Öl	8,63

Es wurden ausgezählt:

- a) Megakaryozyten pro cm^2 Knochenmarkschnitt bei Vergrößerung 25. Pro Zeitintervall kamen 3 bis 5 Tiere zur Auszählung, wobei je Tier 3 Felder gezählt und dann gemittelt wurde. Für jedes Zeitintervall wurde sodann ein Mittelwert (Megakaryozyten pro Tier und cm^2 Knochenmark) errechnet.

Bei diesen und bei allen anderen Zählungen wurde unterschieden zwischen spontan gestorbenen und getöteten Tieren, da postmortale Veränderungen und quantitative Verschiebungen zwischen beiden Gruppen nicht ausgeschlossen werden konnten. Es sei aber erwähnt, daß in den Zeitintervallen bis zum 70. Tag praktisch ausschließlich spontan gestorbene Tiere seziiert wurden. Fibrose-Tiere wurden jeweils gesondert gezählt.

- b) Eosinophile:

Hier wurde ebenso verfahren wie bei der Megakaryozytenzählung, nur daß mit 54-facher Vergrößerung und Ölimmersion gezählt wurde.

3.2.2.3. Knochenmark - qualitativ

Bei der qualitativen Auswertung des Knochenmarkes wurde das Augenmerk auf das Verhalten der Grundstrukturen wie Kapillaren, Sinus-system, Retikulum, Fettgehalt sowie der einzelnen Zellreihen, ihr Verschwinden, Wiedererscheinen, räumliche und verhältnismässige Verteilung im Mark gerichtet.

Bei der Beschreibung und Einteilung der Fibroseentwicklung wählten

wir folgende Gradeinteilung: (diese Einteilung erfasst nur den Reifegrad der Fibrose, nicht ihre Ausdehnung im Knochenmark):

- Stadium + : Auftreten von vermehrten Retikulumzellen, Fibroblasten und Fibrozyten
- Stadium ++ : Bindegewebszellreiche, faserarme Fibrose
- Stadium +++ : Faserreiche, mehr oder weniger zellarme Fibrose
- Stadium ++++: Sklerosierende Fibrose
- (+) : Übergänge zwischen einzelnen Stadien
- ? + : Fragliche Fibrosefrühstufe
- ZS + : Vom Zentralsinus ausgehende Fibrose
- H + : Herdförmige Fibrose

3.2.2.4. Milz - quantitativ

In der Milz war neben der extramedullären Hämopoese von besonderem Interesse, ob sich dieses Organ hinsichtlich seiner Bindegewebsstruktur verändert hatte. Zur Unterscheidung einer echten Bindegewebszunahme von einer solchen, die lediglich durch einen Schrumpfungsprozess zustande kommt, wurden quantitative Messungen vorgenommen.

Ausgezählt wurden, ebenfalls mit "Sandkühler"-Okular:

- a) Die durchschnittliche Zahl der Keimzentren pro Tier und cm^2 Milzschnittfläche bei 10-facher Vergrößerung. Es wurden pro Zeitintervall 3 bis 7 Tiere gezählt; pro Tier wurde über 10 gezählte Felder gemittelt.
- Bei den Keimzentren wurden auch solche mitgezählt, die von Zellen völlig entblößt waren und nur noch aufgrund ihrer Zentralarterie und der konzentrischen Anordnung von Bindegewebsfasern als solche erkannt werden konnten.
- b) Der durchschnittliche Lymphozytengehalt pro Tier und mm^2 Keimzentrumsfläche. Diese Zählungen wurden durchgeführt bei 54-iger Ölvergrößerung (Korrekturfaktor 2,64) und einer Verringerung der Zahl der Planquadrate auf $1/4$ der bei dieser Vergrößerung grösstmöglichen Fläche des Okulars, weil auf diese Weise nach unserer Ansicht der geringen Flächenausdehnung der Keimzentren am ehesten Rechnung getragen werden konnte. Es wurde stets darauf

geachtet, daß die Zentralarterie in einer Ecke des Blickfeldes sichtbar war und daß stets der lymphozytenreichste Sektor des betreffenden Keimzentrums ausgezählt wurde.

Die quantitative Erfassung der Keimzentren und ihres Zellgehaltes ist wegen der verwischten Grenzen der Malpighi-Körperchen nach Zellentleerung bzw. nach Zellinfiltration aus der Umgebung im Rahmen reaktiver oder regenerativer Prozesse schwierig und muß im Hinblick auf diese Schwierigkeiten vorsichtig interpretiert werden.

3.2.2.5. Milz - qualitativ

Qualitativ wurde auf eine Faltung und Verdickung der Milzkapsel, der Trabekel und der Gefäßwände geachtet, des weiteren auf das Auftreten von Hämosiderin und extramedullärer Blutbildung.

3.2.2.6./7. Lymphknoten/Leber

Bei diesen Organen waren Nekrosen, fibrotische Umwandlung und extramedulläre Blutbildung Gegenstand des Interesses. Bei der Auswertung von Milz, Lymphknoten und Leber wurde zwischen gestorbenen und getöteten und osteomyelofibrotischen Ratten unterschieden. Die einzelnen Tiere wurden, wie für das Knochenmark beschrieben, in drei Zeitintervalle zusammengefaßt und zwar in ein Frühintervall vom 4.-14. Tag nach Bestrahlung, ein mittleres Intervall vom 15.-40. Tag und ein Spätintervall ab 41. Tag.

Histo- logie- Nr.	Grad der Fibrose	Be- strah- lung	Erythrocyten in Mill.		Leukocyten		Todesstag nach Todesart	Vorbehandlung der Suspension	Übertra- gung: * Einzel - gemischt	übertragene Zellen (in 10 ⁸)		
			vor	am To- destag	vor	am To- destag				KM	M	LK
EFO109												
56	?? +	750 r	8,07	fehlt	47370	fehlt	4.spontan	- -	einzel	1,0	0,995	
72	+	750 r	8,52	fehlt	21970	fehlt	4. "	Vincristin vivo	"	1,0	0,33	
566	+++(+)	900 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	4. "	6 x DHC vivo	gemischt	0,6	-	-
567	+++	900 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	4. "	6 x DHC vivo	"	0,6	-	-
568	?? +	900 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	4. "	6 x DHC vivo	"	0,6	-	-
125	+	750 r	7,98	fehlt	10408	fehlt	7. "	6 x DHC vivo	"	0,48	-	-
322	? +(+)	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	7. "	-	-	Strahlenkontrolle		
624	ZS ++	750 r	7,24	7,58	11550	1550	8. "	-	gemischt	0,4	-	-
359	ZS ++	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	8. "	Freund Adj.	einzel	1,75	-	-
127	ZS +	750 r	7,51	fehlt	10759	fehlt	9. "	6 x DHC vivo	gemischt	0,48	-	-
110	+	750 r	8,33	fehlt	14838	fehlt	10. "	-	"	0,48	-	-
315	++(+)	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	10. "	-	einzel	0,005	-	-
297	+++((+))	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	10. "	-	"	0,53	-	-
615	+	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	11. "	6 x DHC vivo	gemischt	0,81	-	-
137	+	750 r	8,56	3,02	18000	5611	12. "	-	"	0,48	-	-
273	++(+)	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	15. "	6 x DHC vivo	"	0,80	-	-
109	+++	750 r	8,43	6,07	18432	21300	15. "	-	"	0,48	-	-
515	++	750 r	8,60	fehlt	5620	fehlt	16. "	-	einzel	0,48	-	-
163	+++	750 r	5,98	4,05	6069	679	16. "	2h.Incub. 37°C	gemischt	0,69	-	-
230	++(+)	750 r	6,53	3,24	10165	2228	16. "	DHC vitro	"	0,75	-	-
108	+++	750 r	7,36	2,06	16923	10570	18. "	-	"	0,48	-	-
141	+	750 r	7,48	6,48	14200	17600	18. "	-	"	0,48	-	-
115	+	750 r	7,11	7,24	22900	5505	19.getötet	6 x DHC vivo	"	0,48	-	-
195	?? +	750 r	7,47	5,89	8474	1607	21.spont.	30'Incub. 37°C	"	0,12	-	-
54	?? +	750 r	8,01	7,69	15500	549	21. "	-	-	Strahlenkontrolle		
140	+++	750 r	6,59	5,17	35000	12866	22. "	-	gemischt	0,48	-	-
337	+	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	22. "	-	"	0,037	-	-
545	H ++	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	25.getötet	-	"	4	-	-
520	+	750 r	7,90	9,07	16299	14970	29.spont.	-	einzel	0,48	-	-
523	+(+)	750 r	6,90	8,20	15212	10800	29. "	6 x DHC vivo	"	0,48	-	-
117	+	750 r	7,72	7,81	19000	19000	34. "	6 x DHC vivo	gemischt	0,48	-	-
178	?? +	750 r	6,99	8,03	5857	16141	34. "	4 x DHC vivo	"	0,45	-	-
225	++	750 r	7,80	3,05	10476	8876	34. "	30'Actinomycin	"	0,24	-	-
344	+++(+)	750 r	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt	35. "	-	"	0,15	-	-
2	++(+)	750 r	7,29	5,71	9671	15700	36. "	30'Incub. 37°C	"	0,23	-	-
1	++++	750 r	7,63	6,86	5636	13800	37. "	30' DHC vitro	"	1,6	-	-

Histo- logie- Nr.	Grad der Fibrose	Be- strah- lung	Erythrocyten in Mill.		Leukocyten		Todes- tag nach Todesart	Vorbehandlung der Suspension	Übertra- gung: * Einzel - gemischt	übertragene Zellen (in 10 ⁸)		
			vor	am To- destag	vor	am To- destag				KM	M	LK
138	++(+)	750 r	7,12	6,33	38300	20982	40.spont.	-	gemischt	0,48	-	-
3	H +	750 r	6,94	5,40	5500	31448	41.getötet	2h Incub. 37°C	"	0,23	-	-
465	H +	750 r	7,23	6,69	9076	17146	57.spont.	6 x DHC vivo	einzel	0,48	-	-
94	ZS ++	750 r	8,62	8,75	16046	20460	73.getötet	-	"	0,97	0,79	-
356	+++(+)	750 r	fehlt	7,19	fehlt	25500	80.spont.	Freund + SRBC	"	2,4	-	-
287	++++	750 r	8,87	11,88	5778	14490	80. "	2h Incub. 37°C	gemischt	1,6	-	-
289	++(+)	750 r	7,70	8,24	9297	12279	80.getötet	30' Vincristin	"	1,6	-	-
449	H +	750 r	8,12	6,46	14400	21380	100. "	-	"	0,48	-	-
100	++++	750 r	8,06	7,55	8600	51800	100. "	Vincristin vitro	einzel	1,26	0,80	-
44	+(+)	750 r	8,23	7,18	17400	32500	100. "	-	"	0,70	0,70	-
266	+++(+)	750 r	fehlt	6,89	fehlt	32300	110.spont.	6 x DHC vivo	gemischt	0,81	-	-
267	++++	750 r	fehlt	8,54	fehlt	115100	169.getötet	-	einzel	0,81	-	-

Tabelle 2: Zusammenstellung einzelner Daten von 48 Ratten mit Osteomyelofibrose.

*: einzel: von einem Spender auf einen Empfänger; gemischt: aus einem Gemisch mehrerer Spender auf einen Empfänger. KM = Knochenmark; M = Milzzellen; LK = Lymphknotenzellen; DHC = Symbol für Dehydrocortison (bis C./7) und Solu-Decortin-H (ab C./9). Dosis/Inj.: 0,02 mg/gr. KG.

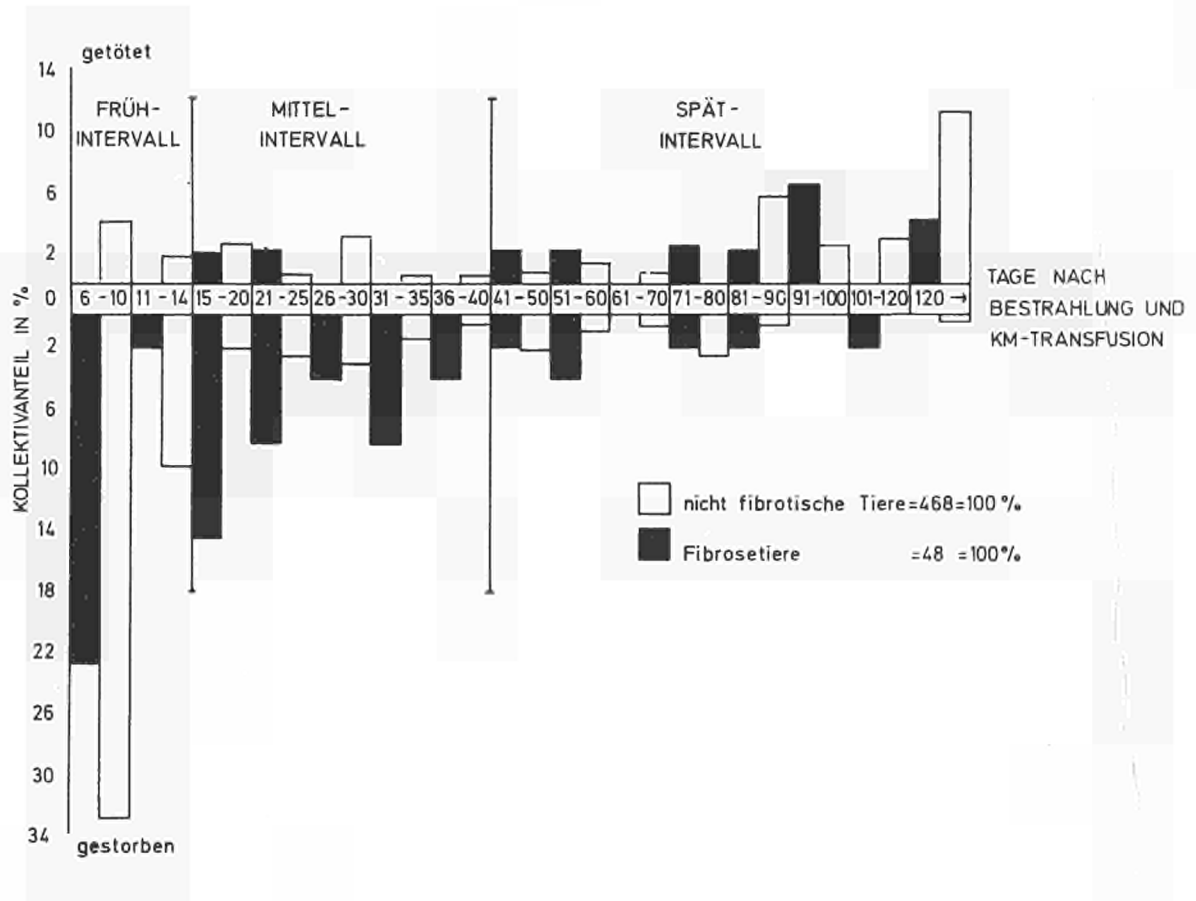


Abb. 3

Verteilung der Fibrosetiere und der nichtfibrotischen Tiere (jedes Kollektiv gleich 100 % gesetzt) in Abhängigkeit von Todesart und Zeitpunkt nach Bestrahlung und Knochenmark-Transfusion

	Frühintervall				Mittelintervall				Spätintervall			
	getötet		gestorben		getötet		gestorben		getötet		gestorben	
	absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%
Gesamt- tierzahl	27	100	213	100	32	100	72	100	127	100	45	100
Myelofi- brotische Tiere	0	0	12	5,6	2	6,2	19	26,4	9	7,1	6	13,3
Nichtmyelo- fibtische Tiere	27	100	201	94,4	30	95,8	53	73,6	118	92,9	39	86,7

Tabelle 2 a: Absolute und prozentuale Verteilung des untersuchten Tiermaterials auf die einzelnen Intervalle nach Bestrahlung und Knochenmarktransfusion unter Berücksichtigung der Todesart und myelofibrotischer Veränderungen.

4. Ergebnisse

4.1. Klinische Befunde

4.1.1. Mortalität

In Tab. 1 waren die Gegebenheiten der einzelnen Versuche wiedergegeben.

In Tab. 2 sind diejenigen 48 Tiere, die unter den 516 untersuchten Tieren Veränderungen im Sinne einer Myelofibrose aufwiesen, mit Einzelheiten über ihre Vorbehandlung und Befunde zusammengefaßt. Die Aufstellung wurde ohne Rücksicht auf die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Versuchsserie in Abhängigkeit vom Todesdatum vorgenommen. Die Gruppe der Fibrosetiere umfaßt 9,3 % des Gesamtmaterials.

Aus Tabelle 2 geht weiter hervor, daß die im Früh- und Mittelintervall anfallenden Fibrosetiere fast ausnahmslos spontan gestorben sind, während die Tiere im Spätintervall überwiegend getötet wurden. Es soll untersucht werden, ob diese Verteilung der übrigen, nicht fibrotischen Tiere entspricht, oder ob sich Unterschiede in dieser Hinsicht ergeben. Zu diesem Zweck wurden die fibrotischen und nicht fibrotischen Tiere als Kollektiv jeweils gleich 100 % gesetzt und in Abhängigkeit von Todesart und Todeszeitpunkt aufgetragen. Wie Abb. 3 zeigt, fällt die Mehrzahl spontan nach letaler Ganzkörperbestrahlung und Knochenmarktransfusion gestorbener Ratten in das erste Intervall vom 1.-14. Tag nach Bestrahlung. Von den 213 in diesem Zeitraum verstorbenen Tieren waren 12, oder 5,6 %, fibrotisch oder zeigten mehr oder weniger deutliche Anzeichen einer beginnenden Fibrose (s. auch Tab. 2 a). Von den 72 Ratten, die im Mittelintervall, zwischen dem 15. und 40. Tag also, starben, waren 19 oder 26,4 % fibrotisch. Von den 45 Tieren, die jenseits des 41. Tages nach Bestrahlung - im Spätintervall - spontan verstarben, zeigten 6 Ratten (13,3 %) Knochenmarkveränderungen im Sinne einer, meist ausgeprägten, Osteomyelofibrose, bzw. -sklerose.

Intervall	Tierzahl pro Kollektiv	Myelofibrotisch		Nichtmyelofibrotisch	
		getötet	gestorben	getötet	gestorben
Früh	absolut	0	12	27	201
	%	0	25	5,7	42,9
Mittel	absolut	2	19	30	53
	%	2	19	6,4	11,3
Spät	absolut	9	6	118	39
	%	19	12	25,2	8,3

Tabelle 2 b: Nichtfibrotische und myelofibrotische Tiere als Kollektiv jeweils gleich 100 % gesetzt und in Abhängigkeit von der Todesart auf die einzelnen Intervalle nach Bestrahlung verteilt.

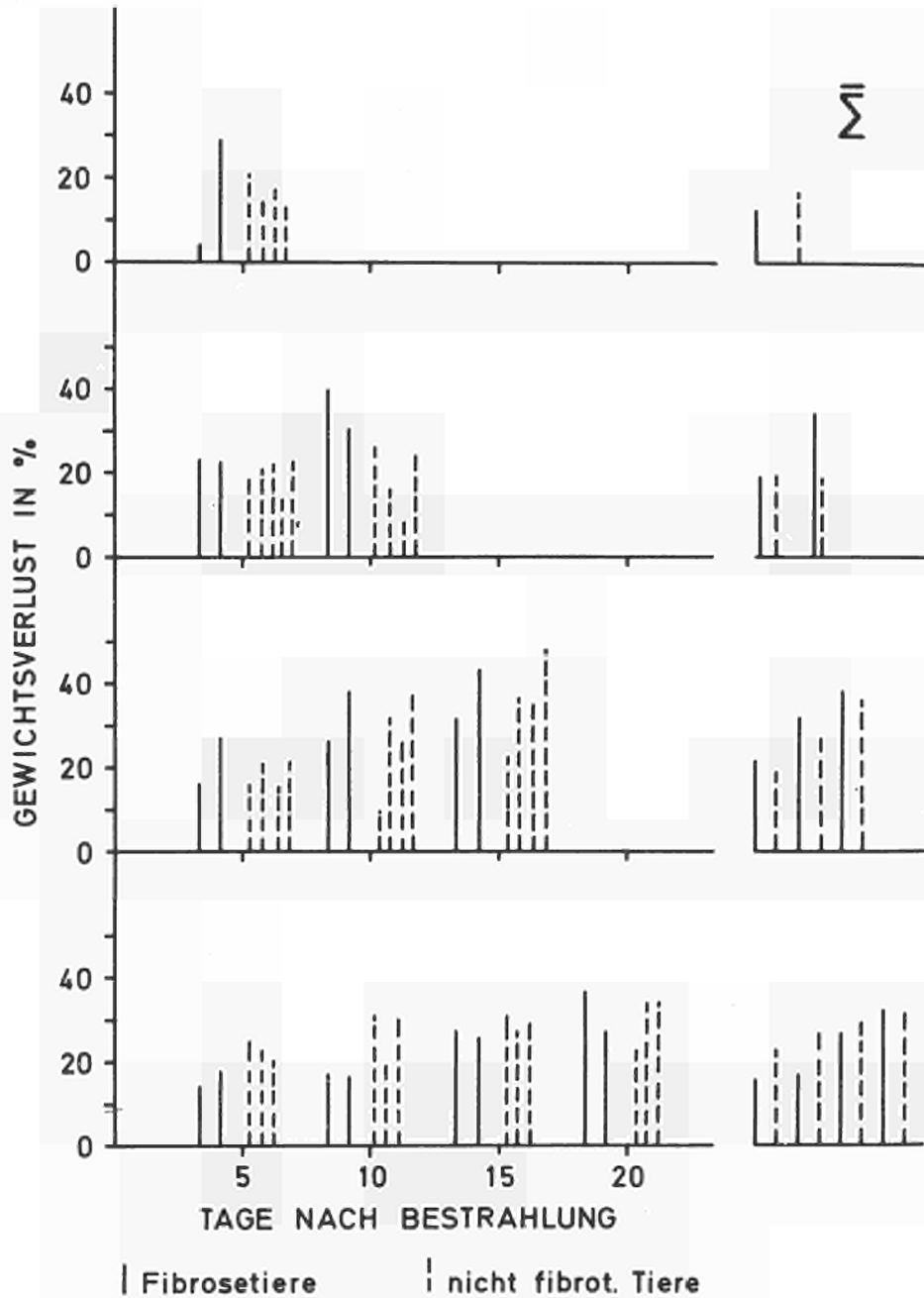


Abb. 4

Vergleich des Gewichtsverlustes fibrotischer und nichtfibrotischer Tiere, die 5, 10, 15 bzw. 20 Tage nach Bestrahlung und KM-Transfusion starben. In der linken Rubrik entspricht jede Säule einem Tier; rechts sind die Mittelwerte aufgetragen.

Keines der 27. zwischen dem 1. und 14. Tag nach Bestrahlung getöteten Tiere zeigte Osteomyelofibrose. Dagegen fanden sich unter den 32 im Mittelintervall getöteten Ratten 2 Fibrosefälle (= 6,2 %) während im Spätintervall der Anteil fibrotischer Tiere an den insgesamt 127 getöteten 7,1 % entsprechend 9 Tieren betrug.

42,9 % aller nicht fibrotischen Tiere starben im Frühintervall, 11,3 % im Mittelintervall (zusammen 54,2 %). Im Spätintervall starben weitere 8,3 % (s. auch Tab. 2 b).

Bei den Fibrosetieren waren es in den ersten 14 Tagen rund 25 %, die starben; zwischen dem 15. und 40. Tag waren es rund 40 %. (Zusammen: 65 %) Im Spätintervall folgten etwa 12 %. Die Sterbequote in den beiden ersten Intervallen verhält sich also bei fibrotischen und nicht fibrotischen Tieren etwa umgekehrt. Dies weist darauf hin, daß die Osteomyelofibrose als echte Todesursache bei den Ratten betrachtet werden muss.

Während bei den nichtfibrotischen Ratten im ersten Intervall 5,7 %, im zweiten 6,4 % und im Spätintervall 25,2 % getötet wurden, beliefen sich die Prozentzahlen für die fibrotischen Tiere in den entsprechenden Zeiträumen auf 0 %, 4 % und 19 %.

4.1.2. Körpergewicht

Da Unterschiede in den Wiederanstiegen des Gewichts nach Bestrahlung möglicherweise einen Hinweis geben auf das Einsetzen einer Osteomyelofibrose, wurden fibrotische und nicht fibrotische Tiere zu verschiedenen Zeiten nach Bestrahlung auf ihr Gewicht im Vergleich zu ihren Anfangsgewichten getestet. In Abb. 4 ist der Gewichtsverlust in Prozent des Anfangsgewichtes einzelner Tiere aufgetragen. Es wurden von oben nach unten Tiere aufgezählt, die die Bestrahlung bis zu 5, 10, 15 bzw. 20 Tagen überlebt haben. In den Kurven links erscheinen die Einzeltiere, in denen rechts die Mittelwerte ihrer Gewichtsverluste. In keiner der Gruppen lässt sich ein gesetzmässiges Überwiegen der fibrotischen oder nicht fibrotischen Tiere hinsichtlich ihres Gewichtsverlustes feststellen.

Auch die Stagnation des Gewichtsanstieges im Spätverlauf, bzw. der prämortale Gewichtsabfall ist bei fibrotischen und nicht fibrotischen Tieren gleichermaßen vorhanden.

4.1.3. Periphere Blutbilder

Als "Normaldifferentialblutbild" wurden die Mittelwerte von 10 unbehandelten Wistar-Ratten, die aus demselben Stall wie die für die Versuche benutzten Ratten kamen, als Anfangswerte zugrunde gelegt, da für viele der untersuchten Tiere keine solchen vorlagen. Die errechneten Werte entsprechen den Angaben Lawkowitz's (51).

Da in den peripheren Blutbildern getöteter und gestorbener behandelter Ratten zu keinem Zeitpunkt nach Bestrahlung wesentliche Differenzen auftraten, wurden diese beiden Kollektive bei der Beurteilung ihres Blutbildes zusammengefasst. Die Ergebnisse der einzelnen Zellfraktionen sind in den Kurven 5 bis 14 graphisch wiedergegeben.

Zusammenfassend für die Granulozyten und Lymphocyten ergibt sich im peripheren Blut folgendes Bild:

Der Wiederanstieg der kernhaltigen Zellen nach dem 12.-15. Tag geht in erster Linie auf einen Lymphozytenanstieg zurück, so daß die Granulozytenzahlen, deren Werte sich im Normalbereich oder teilweise etwas höher bewegen, relativ immer stärker zurückgehen, während sie sich anfangs schneller erholt hatten als die Lymphocyten.

Bei der Betrachtung der myeloischen Zellen fällt auf, daß dem Granulozytenabfall nach Bestrahlung ein Anstieg der reifen Stabkernigen und der unreifen Zell-Vorläufer parallel geht, was einer Linksverschiebung in der Ausreifung entspricht. Dieses gegenläufige Verhalten zwischen den Segmentierten und ihren Zellvorläufern ist besonders ausgeprägt bei den Fibrosetieren. Auch die Dauer der Linksverschiebung ist bei diesen Tieren länger.

Im Einzelnen ergaben sich folgende Befunde:

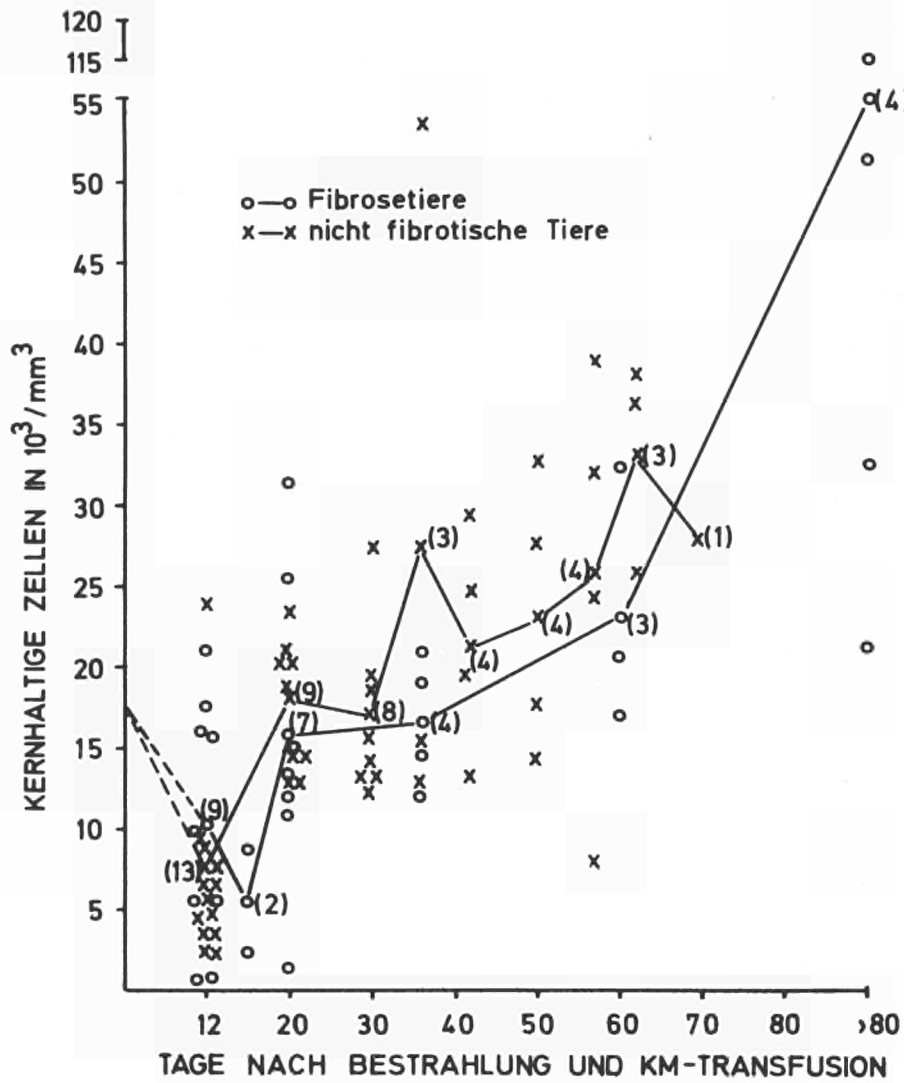


Abb. 5

Kernhaltige Zellen im peripheren Blut von Fibrosetieren und nichtfibrotischen Tieren. In Klammern ist die Zahl der zu einem Zeitpunkt untersuchten Tiere aufgeführt.

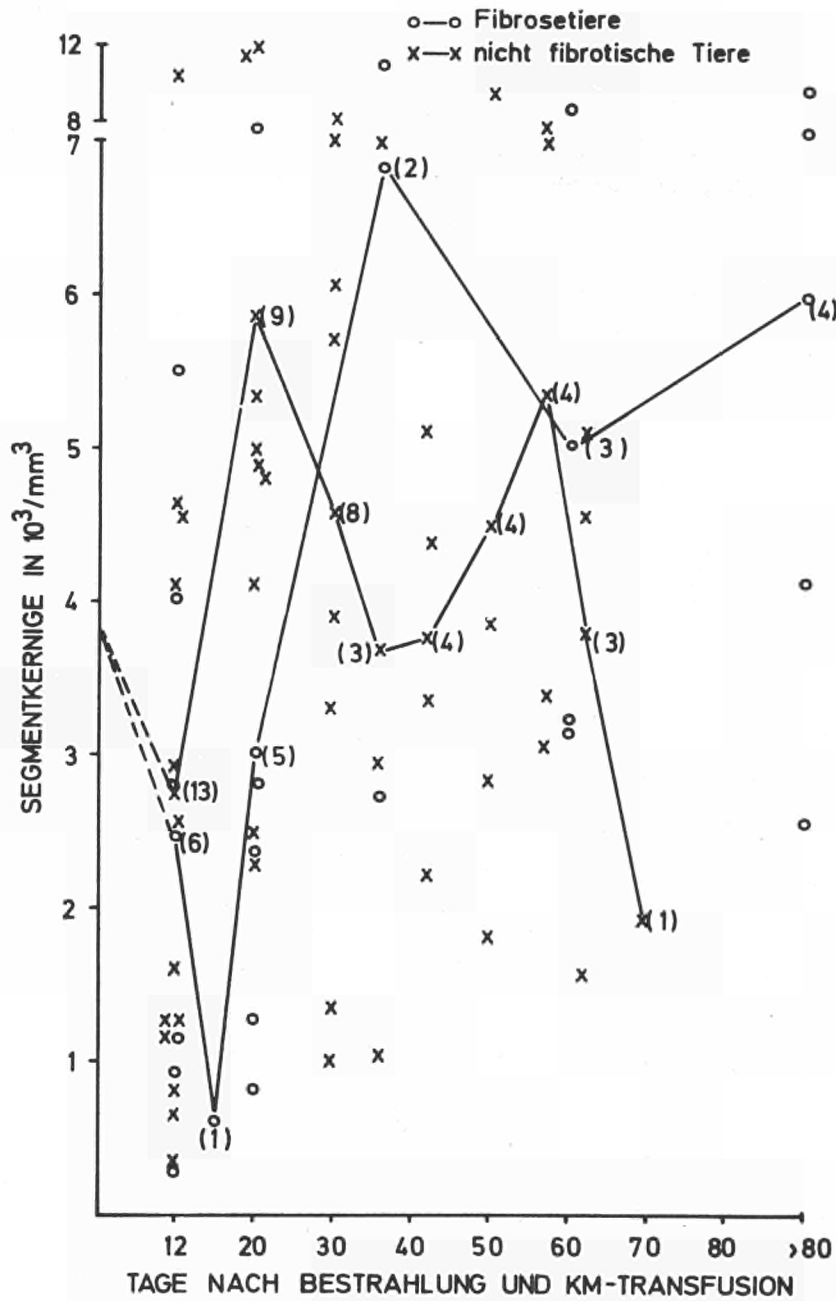


Abb. 6

Segmentkernige Granulocyten im peripheren Blut von Fibrosetieren und nichtmyelofibrotischen Tieren. In Klammern ist jeweils die Zahl der zu einem Zeitpunkt untersuchten Ratten aufgeführt.

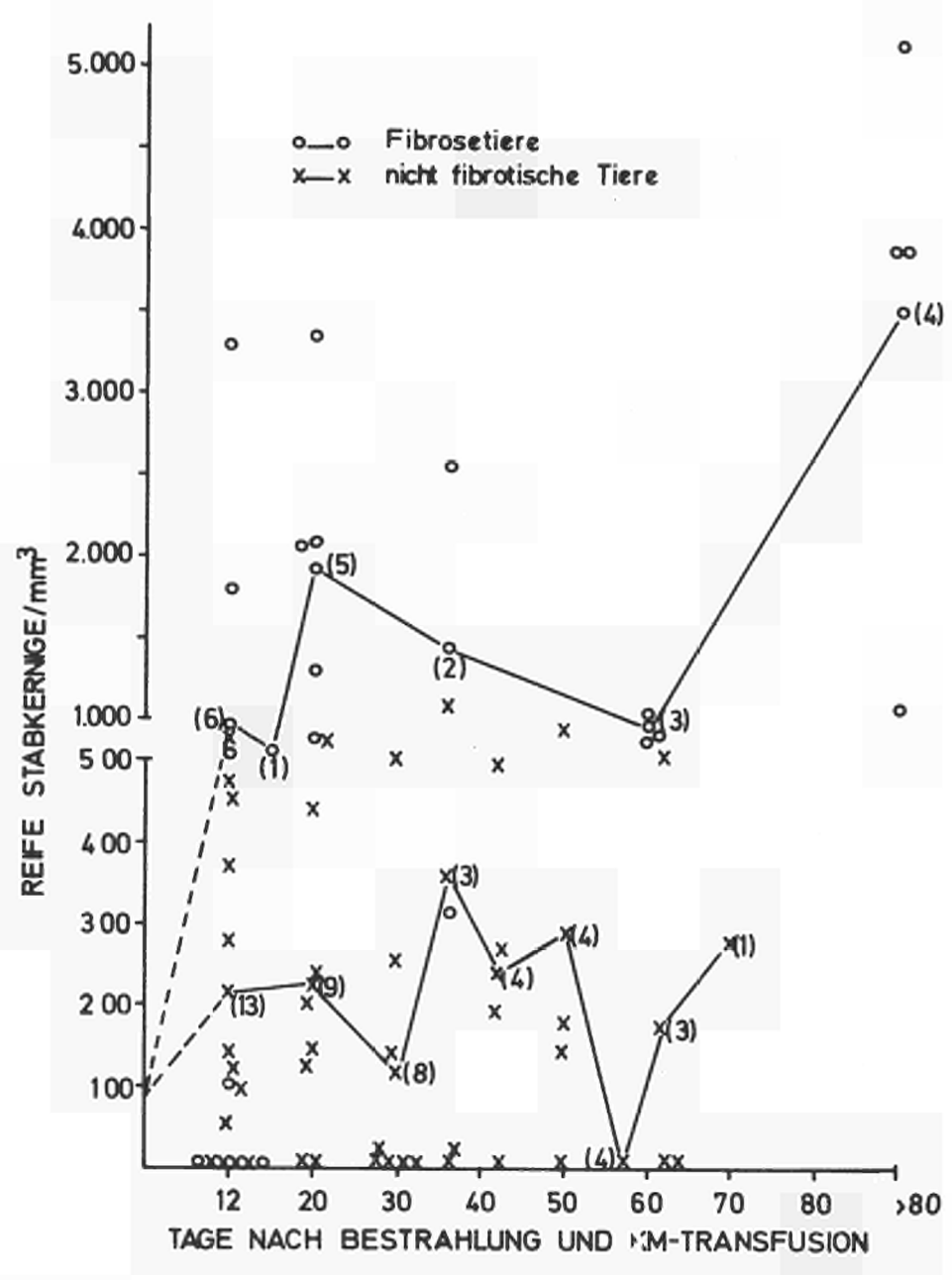


Abb. 7
 Reife Stabkernige Granulocyten im peripheren Blut von fibro-
 tischen Tieren und Ratten ohne Myelofibrose.

4.1.3.1. Gesamtzahl kernhaltiger Zellen (Abb. 5)

Die Zahl kernhaltiger Zellen im peripheren Blut fällt bis zum 12.-15. Tag nach Bestrahlung auf Werte von durchschnittlich 5-8000 ab, was etwa einem Drittel bis der Hälfte der Norm entspricht. Es kommt dann zu einem kontinuierlichen Zellanstieg wobei die nichtfibrotischen Tiere sich etwas schneller erholen und bis zum 60. Tag nach Bestrahlung auch etwas höhere Werte aufweisen als die Fibrosetiere. In der späten Phase jenseits des 60. Tages kommt es dann zu einem stärkeren Zellanstieg auf Seiten der myelofibrotischen Tiere. Vergleichszahlen für die Kontrolltiere liegen nicht vor.

4.1.3.2. Neutrophile

4.1.3.2.1. Segmentkernige: (Abb. 6)

Während die Kurven der Gesamtzellzahlen beider Kollektive recht gleichsinnig verlaufen, liegen bei den Segmentkernigen weniger einheitliche Verhältnisse vor. Die Zahlen der Granulozyten bei den nichtfibrotischen Tieren sinken zum 12. Tag hin ab, um zum 20. und zum 57. Tag jeweils Maximalwerte weit über der Norm zu erreichen. Zwischen beiden Maxima liegt ein Minimalwert, der sich im Normalbereich befindet. Die Werte der Fibrosetiere sinken ebenfalls zum 12. Tag, erreichen ihren Tiefpunkt aber erst am 15. Tag, wosie unter 1000 Zellen/mm^3 liegen. Ein Anstieg erfolgt dann bis zum 37. Tag; er wird gefolgt von einem Rückgang auf ein Niveau, das den Maximalwerten der nichtfibrotischen Tiere entspricht.

4.1.3.2.2. Reife Stabkernige (Abb. 7)

Während die Zahl der reifen Stabkernigen bei den nichtfibrotischen Tieren sich kontinuierlich auf einem Niveau etwas über der Norm bewegt, um nur zum 57. Tag einmal auf den Nullpunkt zu sinken, zeigen die Fibrosetiere einen viel unruhigeren Verlauf. Es kommt zunächst zu einem starken Anstieg mit Maximum am 20. Tag, sodann zu einem Rückgang der reifen Stabkernigen auf subnormale Werte um den 60. Tag, die später wieder auf das Niveau des 20. Tages ansteigen.

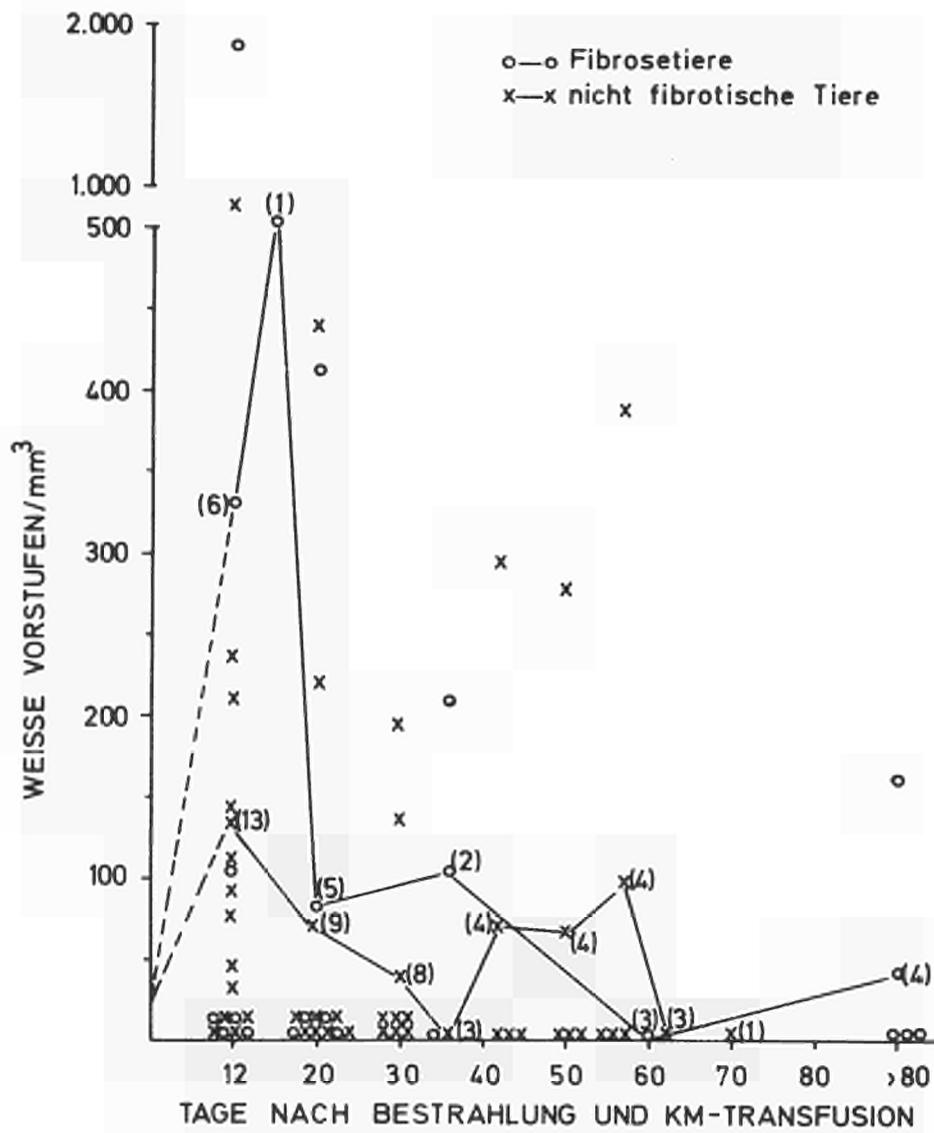


Abb. 8

Unreife granulopoetische Vorstufen im peripheren Blut von Fibrosetieren und Tieren ohne KM-Fibrose.

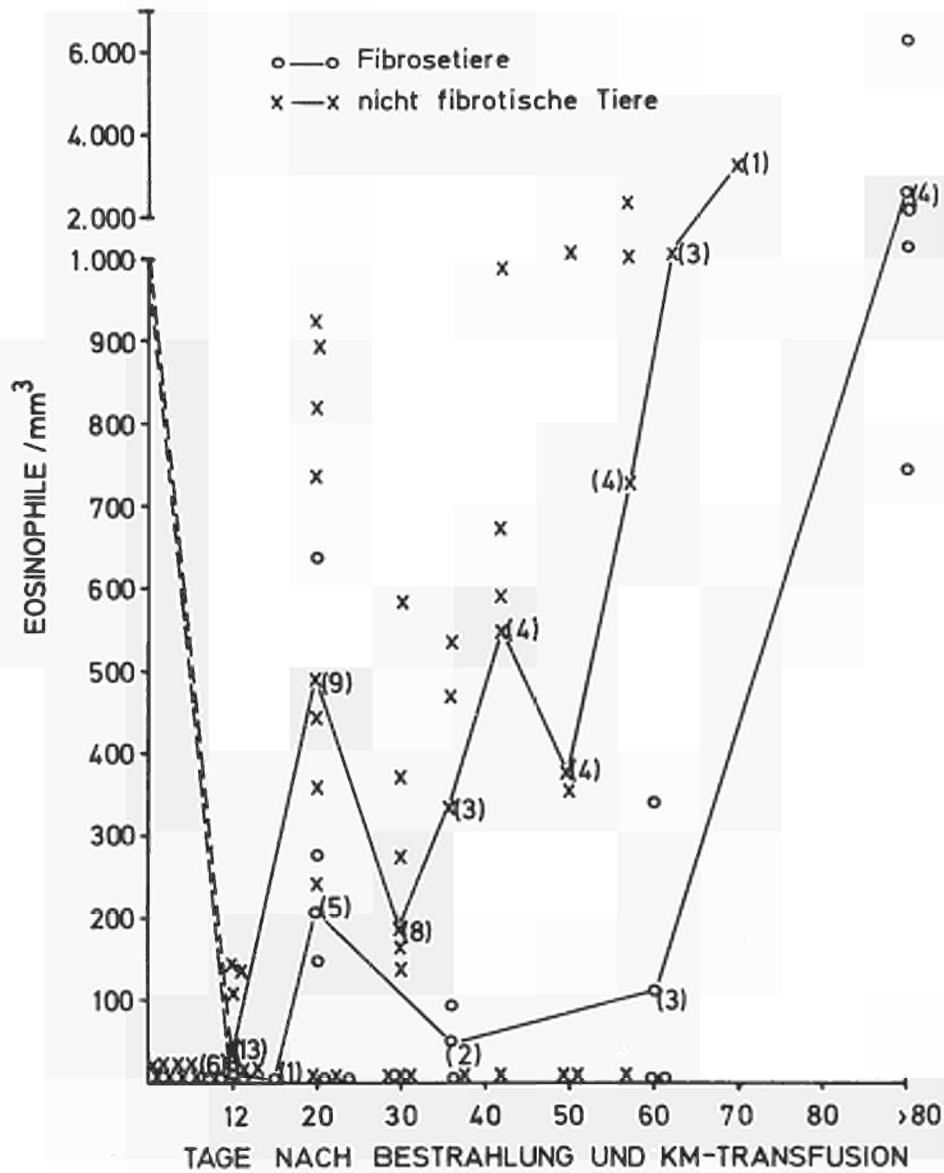


Abb. 9
 Eosinophile Granulocyten im peripheren Blut von Fibrosetieren
 und Ratten ohne KM-Fibrose.

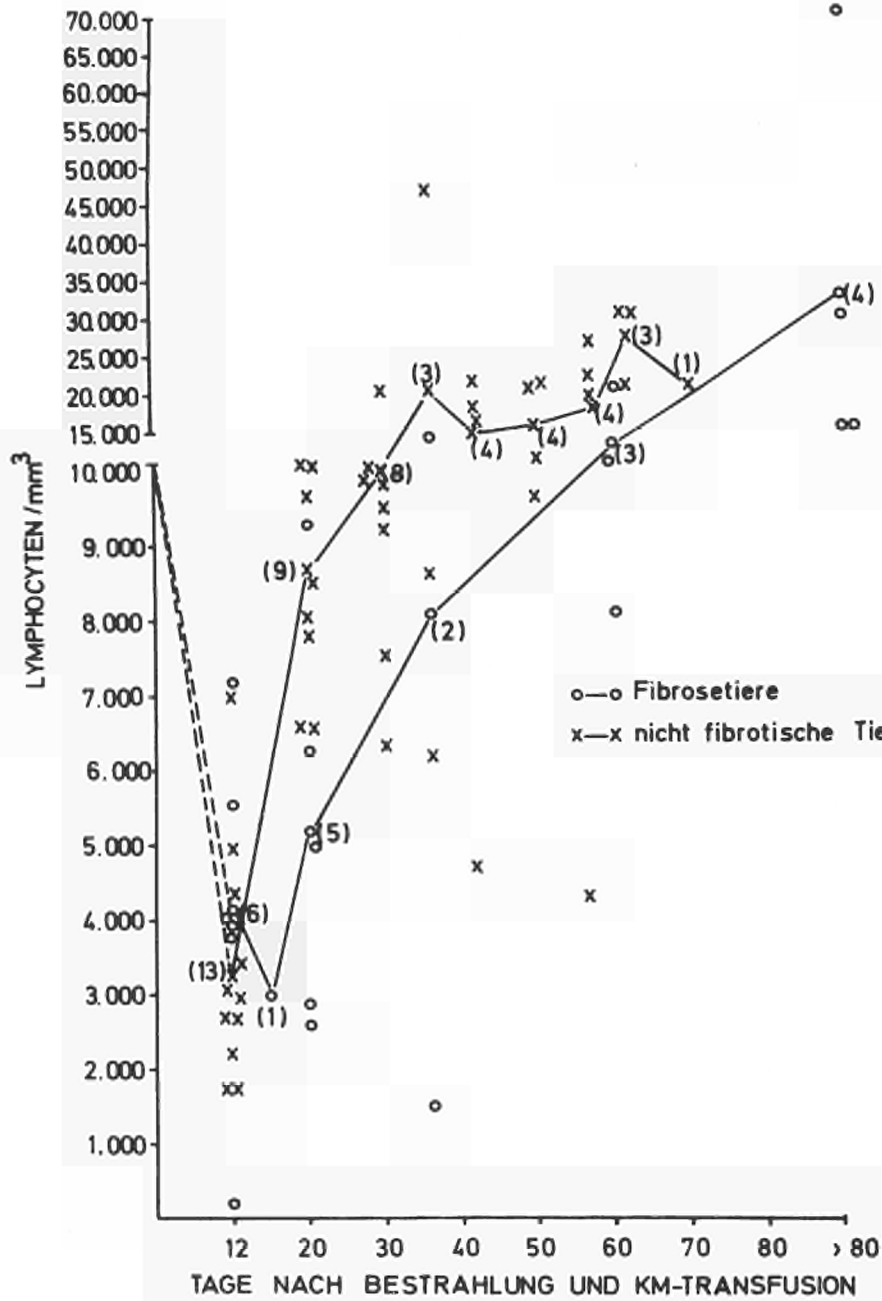


Abb. 10

Lymphocyten im peripheren Blut von Fibrosetieren und Ratten ohne KM-Fibrose.

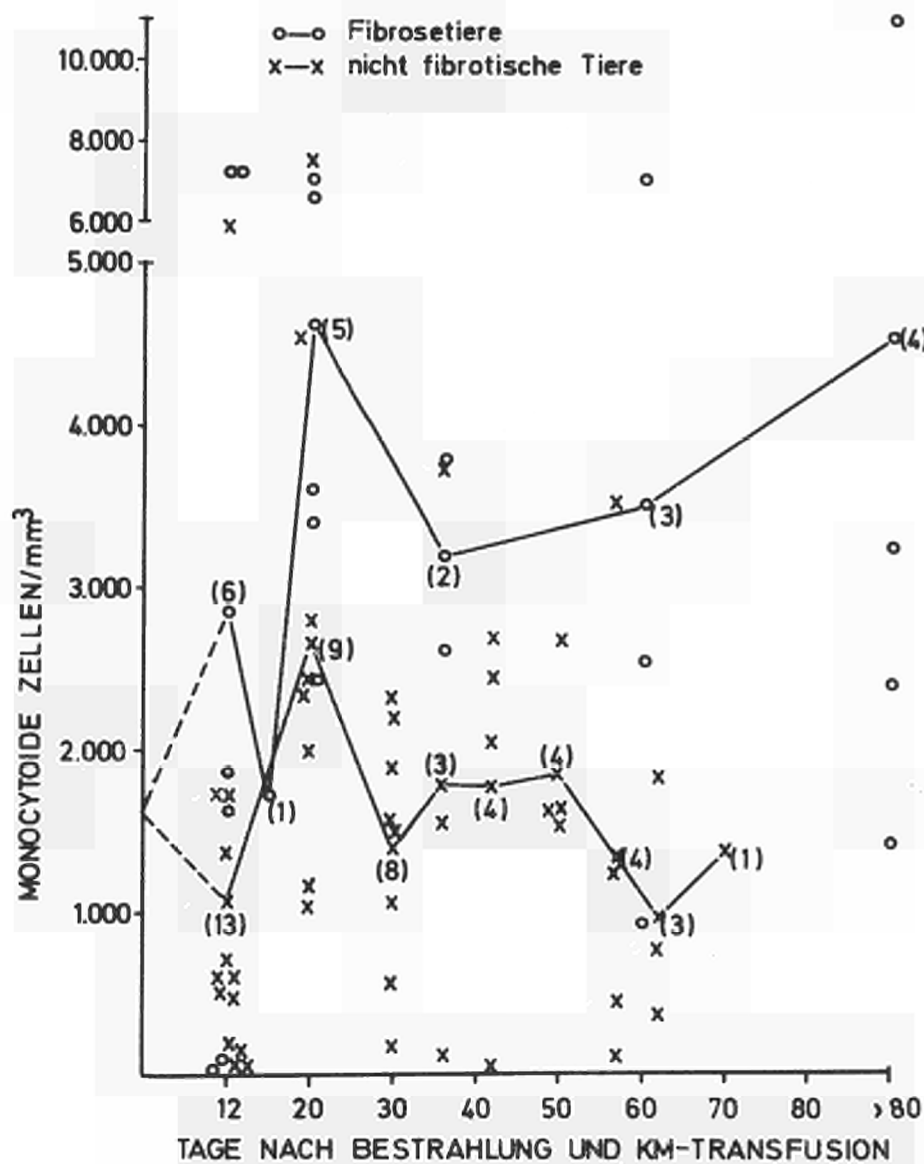


Abb. 11

Monocytoide Zellen im peripheren Blut von Fibrosetieren und Ratten ohne KM-Fibrose.

4.1.3.2.3. Unreife weiße Vorstufen (Abb. 8)

Im Hinblick auf das Auftreten myeloischer Vorstufen im Blut überwiegen die fibrotischen Tiere. Sie zeigen einen starken Anstieg bis zum 15. Tag nach Bestrahlung, einen Tiefpunkt am 20. Tag, der aber noch über dem Wert der nichtfibrotischen Tiere an diesem Tag liegt, und einen erneuten Anstieg um den 35. Tag, der um den 60. Tag herum wieder auf den Nullpunkt zurückgeht. Danach erfolgt ein erneuter geringerer Anstieg auf Werte, die den Maximalwerten der nichtfibrotischen Tiere entsprechen. Die Tiere ohne Fibrose zeigen zwei weniger ausgeprägte Maxima am 12. Tag und am 57. Tag und erreichen zwischen dem 30. und 50. Tag Nullwerte. Hervorzuheben ist der auffällig unruhige schub- oder wellenförmige Kurvenverlauf für die unreifen Zellen der Fibrosetiere, was eine Störung im Ausreifungs- oder im Ausschwemmungsmechanismus, sei es der extramedullären Herde oder des Knochenmarkes, widerspiegeln könnte.

4.1.3.3. Eosinophile (Abb. 9)

Bei dieser Zellfraktion entsprechen sich beide Kollektive nahezu, nur daß die Fibrosetiere zu jedem Zeitpunkt etwas niedrigere Werte aufweisen. Nach einem Zellabfall zum 12. Tag erreichen beide Kollektive nach einem vorübergehenden geringen Anstieg um den 20. Tag und langsamer Erholung, die Fibrosetiere noch zögernder als das Vergleichskollektiv, erst nach dem 60. Tag wieder Normalwerte, die dann aber rapide überschritten werden.

4.1.3.4. Lymphozyten (Abb. 10)

Auch in dieser Gruppe liegen für beide Kollektive ähnliche Verhältnisse vor. Nach einem Abfall der Zellen bis zum 12. und 15. Tag kommt es zum Wiederanstieg, der um den 30. Tag das Normalniveau überschreitet und sich kontinuierlich fortsetzt, wobei die Werte der Fibrosetiere erst später die der Vergleichstiere überschreiten.

4.1.3.5. Monocytoide Zellen (Abb. 11)

Während die monocytoiden Zellen der nichtfibrotischen Tiere für

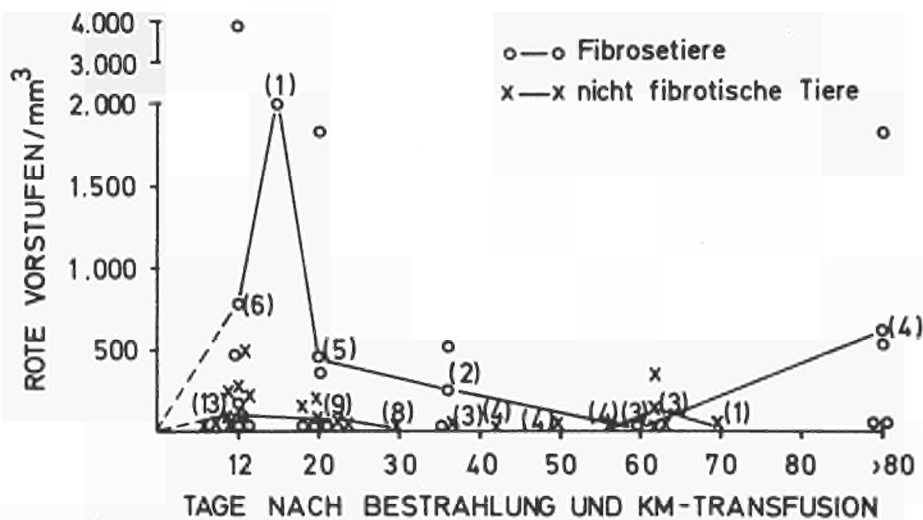
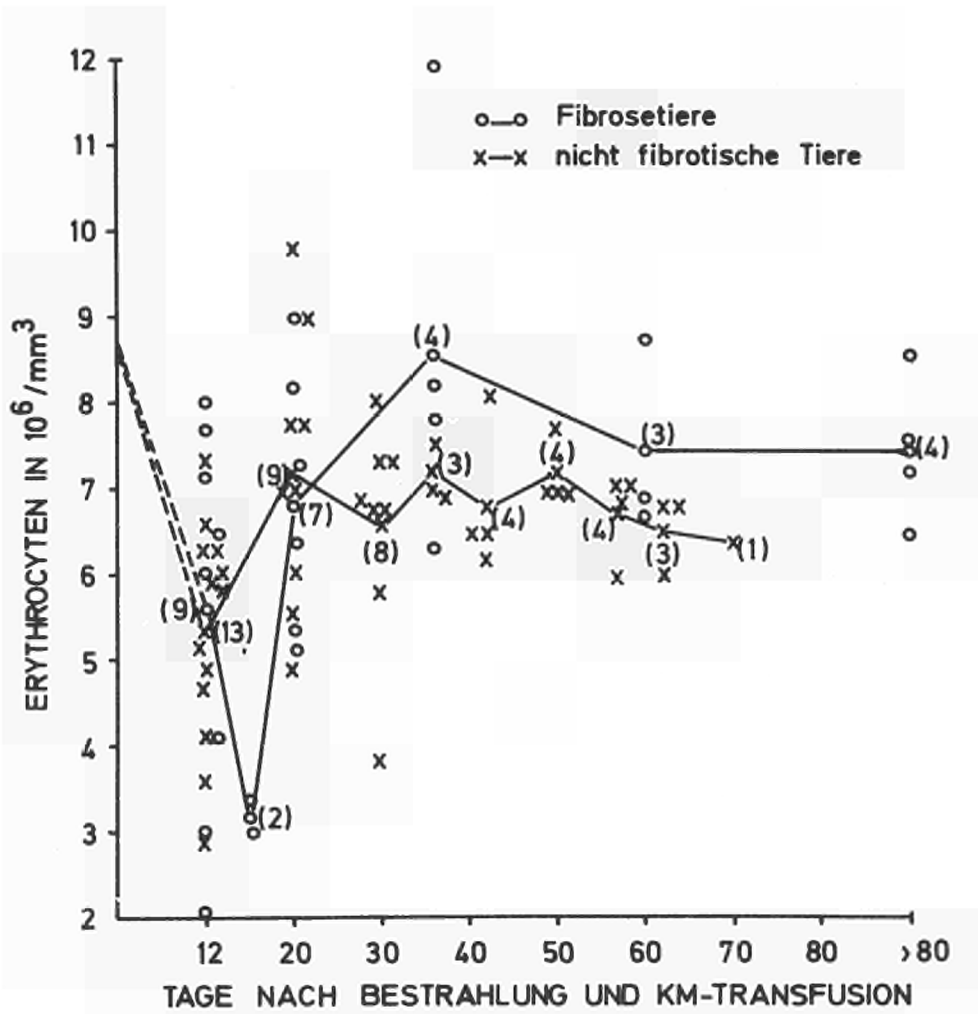


Abb. 12/13

Erythrozyten und unreife rote Zellvorstufen im peripheren Blut von Fibrosetieren und Ratten ohne KM-Fibrose.

die Dauer der Beobachtung im Normbereich auf- und abschwanken, stieg ihr Wert bei den Fibrosetieren am 20. Tag vorübergehend deutlich an, um dann auf supranormale Werte zurückzugehen. Nach dem 80. Tag kommt es dann noch einmal zu einem deutlichen Anstieg der monocytoiden Zellen.

4.1.3.6. Erythrozyten (Abb. 12)

Nach einem anfänglichen Zellabfall bei beiden Kollektiven auf ein Minimum, am 12. Tag für die nichtfibrotischen Tiere, am 15. Tag für die Fibrosetiere - repräsentiert durch zwei moribund getötete Tiere -, kommt es zum Wiederanstieg, der bei dem Vergleichskollektiv für die Dauer der Beobachtung normale Durchschnittswerte nicht erreicht, bei den Fibrosetieren nur um den 36. Tag einmal Normalwerte erreicht.

4.1.3.7. Rote Vorstufen (Abb. 13)

Ähnlich wie bei den myeloischen Zellvorläufern überwiegt auch hier die Gruppe der Fibrosetiere. Die nichtfibrotischen Tiere steigen vorübergehend mit der Zahl roter Vorstufen an, mit einem Maximum am 12. Tag nach Bestrahlung, um bis zum 30. Tag wieder verschwunden zu sein. Der Zellanstieg bei den Fibrosetieren ist steil und erreicht am 15. Tag sein Maximum weit über dem des Vergleichskollektivs. Der Rückgang verläuft gegenüber den Vergleichstieren deutlich verlangsamt. Die Zahlen liegen am 36. Tag noch über dem Maximum der nichtfibrotischen Tiere und haben erst am 60. Tag den Nullpunkt erreicht. Später, jenseits des 80. Tages, ist eine erneute Erhöhung der Zahl kernhaltiger roter Zellen eingetreten.

Zusammenfassend für die rote Zellreihe im peripheren Blut ergibt sich folgende Aussage:

Beide Gruppen erreichen für die Dauer der Untersuchung praktisch nur subnormale Erythrozytenwerte. Zum Zeitpunkt der stärksten Anämie weisen beide Kollektive das erste Maximum an roten Vorstufen im Blut auf. Die Fibrosetiere weisen im Gegensatz zu den Vergleichs-

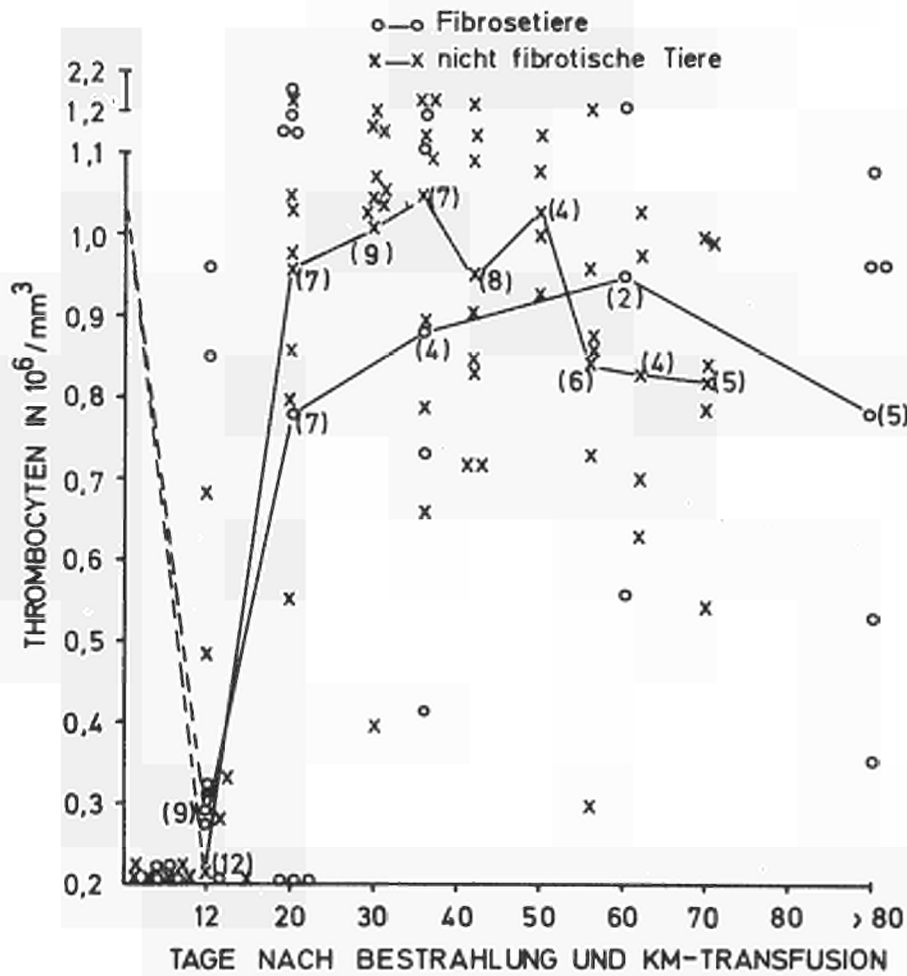


Abb. 14

Thrombozyten im peripheren Blut von Fibrosetieren und Ratten ohne KM-Fibrose.

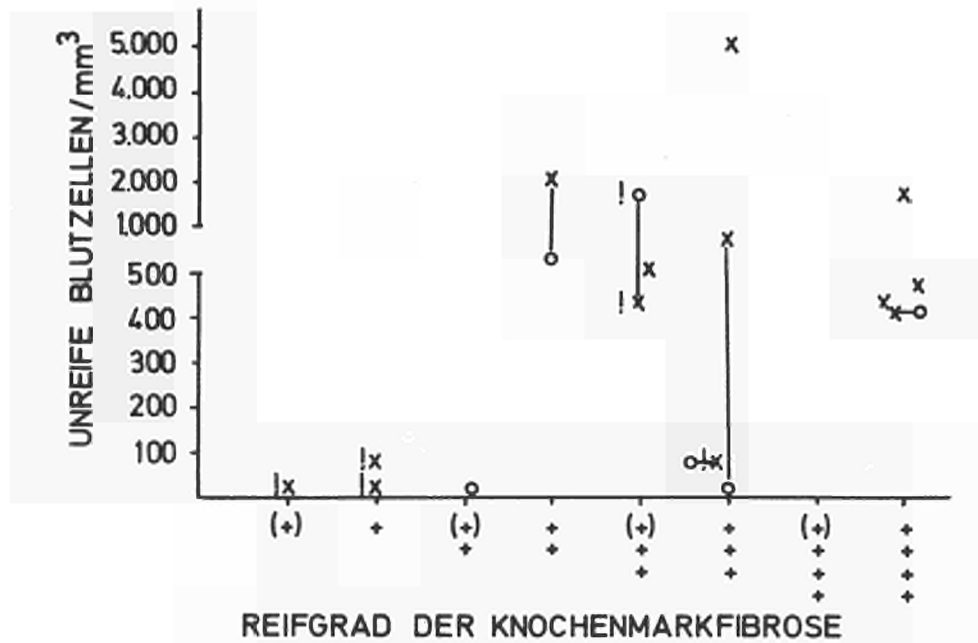


Abb. 15

Beziehung zwischen dem Auftreten unreifer Blutzellvorstufen im peripheren Blut einzelner Fibrosetiere und dem Grad der KM-Fibrose dieser Tiere.

o = weiße Vorstufen

x = rote Vorstufen

! = Werte vom 12. od. 13. Tag nach Bestrahlung. In dieser Zeit traten auch bei nichtfibrotischen Tieren unreife Zellvorläufer in der Peripherie auf. Rote und weiße Vorstufen, die zu einem Tier gehören, sind mit einem Strich verbunden.

kollektiven und bei nahezu normalen Erythrozytenwerten einen zweiten Anstieg roter Vorstufen jenseits des 80. Tages auf.

Im Prinzip entspricht die Verteilung der roten Vorstufen der der unreifen weißen Zellvorläufer, insofern als man bei beiden einen frühen Gipfel vom 15. bis 40. Tag nach Bestrahlung und einen Spätanstieg jenseits des 80. Tages findet.

4.1.3.8. Thrombozyten (Abb. 14)

Die Reaktion der Thrombozyten auf Bestrahlung und Markzelltransfusion ist, wie Abb. 14 zeigt, bei beiden Kollektiven gleich, nur daß die nichtfibrotischen Tiere nach anfänglich etwas tieferem Abfall sich schneller erholen und bis zum 50. Tag auch höhere Werte als die Fibrosetiere zeigen, im weiteren Verlauf jedoch, ebenso wie diese, wieder absinken auf subnormale Werte. Megakaryozyten fanden sich im peripheren Blut nie.

4.1.3.9. Auftreten von Blutzellvorläufern im peripheren Blut in Abhängigkeit vom Grad der Knochenmarkfibrose

In Abb. 15 ist die Zahl der unreifen Blutzellen/mm³ aufgetragen. Es ergibt sich: Von 28 Fibrosetieren, deren Blutbild untersucht wurde, wiesen 14 unreife Zellen im Blut auf, deren Anteil am stärksten bei den deutlich beginnenden, bis kompletten Fibrosen ist; bei den sklerosierenden Fibrosen ist er weniger stark ausgeprägt aber immer noch deutlich höher als bei den fraglichen bis beginnenden Fibrosen.

4.1.4. Klinische und postmortale Befunde

Der äußerlich - klinische Eindruck, sowie die postmortalen Befunde, die an den osteomyelofibrotischen Tieren erhoben wurden, entsprechen dem, was man bei den nichtfibrotischen Tieren beobachten konnte.

Rein klinisch fallen in den ersten Tagen nach Bestrahlung strup-

Histo-Nr.	Experiment	Todestag n.Bestr.	Fibrose-grad	Klinische Befunde				Pathologisch-anatomische Befunde					
				Allgemeinzustand	Fell	Intestin.	Infekte	Lymphknoten	Milz	Thymus	Leber	Lunge	
EFO109-56-72	C,/6 C	4.spont.	?? +	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	klein					alte Pneumonie
	C,/6 E	4.spont.	+	o.B.	o.B.	o.B.	Schnupfen (2.)	sehr klein	sehr groß, derb	klein			
566	C,/13	4.spont.	+++(+)	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.						
567	C,/13	4.spont.	+++	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.						
568	C,/13	4.spont.	???	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.						
125	C,/9 III C	7.spont.	+	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.		leicht atrophisch	klein	blaß		
322	C,/4	7.spont.	?+(+)	o.B.	struppig (4.-7.)	Diarrhoe (4.-7.)	o.B.	hämorrh.	relativ groß	hämorrh.			
624	C,/15C	8.spont.	ZS ++	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.						
359	C,/4	8.spont.	ZS ++	o.B.	struppig (2.-8.)	leichte Diarrhoe	o.B.	z.T. atrophisch	groß	groß	groß, blaß		Pneumonie
127	C,/9 III B	9.spont.	ZS +	o.B.	o.B.	o.B.	Schnupfen (8.)	hämorrh.	blaß, klein				
110	C,/9 II E	10.spont.	? +	o.B.	o.B.	Diarrhoe (8.)	o.B.	leicht hämorrh.	sehr klein		blaß		
315	C,/4 I D	10.spont.	++(+)	krank (6.-10.)	o.B.	o.B.	Schnupfen (6.-10.)	atrophisch	klein	klein			alte Infiltrate
297	C,/4 I A	10.spont.	+++((+))	krank (2.-10.)	struppig	Diarrhoe	Schnupfen	z.T.sehr groß	relativ groß	klein	lehmfarben		
615	C,/3 D	11.spont.	+	krank (7.-11.)	blaß, struppig	o.B.	Schnupfen (5.-11)	sehr hämorrh.	mittel-groß	sehr klein			Pneumonie
137	C,/9 II D	12.spont.	+	o.B.	o.B.	Diarrhoe (4.-8.)	Schnupfen (8.-12.)	ikterisch	blaß				
273	C,/3 D	15.spont.	++(+)	o.B.	struppig (4.-15.)	o.B.	o.B.		sehr klein				Ödem
109	C,/9 II E	15.spont.	+++	o.B.	o.B.	o.B.	Schnupfen (13.-15.)	groß	klein				
515	C,/9 I D	16.spont.	++	o.B.	o.B.	Diarrhoe (13.-16.)	o.B.						
163	C,/2-C	16.spont.	+++	krank (11.-16.)	blaß struppig	o.B.	o.B.	mäßig klein	sehr klein	sehr klein			
230	C,/1 F	16.spont.	++(+)	krank (9.-16.)	o.B.	o.B.	Schnupfen (14.-16.)	hämorrh.	groß				
108	C,/9 II E	18.spont.	+++	o.B.	o.B.	Diarrhoe (13.-18.)	Schnupfen (13.-18.)	groß, z.T. hämorrh.	blaß		gefel-dert		

Histo-Nr.	Experiment	Todesstag n.Bestr.	Fibrose- grad	Klinische Befunde				Pathologisch-anatomische Befunde				
				Allgemein- zustand	Fell	Intestin.	Infekte	Lymphkno- ten	Milz	Thymus	Leber	Lunge
141	C/9 II E	18. spont.	+	o.B.	o.B.	Diarrhoe (13.-18.)	o.B.	groß, z.T. hämorrh.	o.B.	klein		O-Lappen Pneumonie
115	C,/9 III E	19. getötet	+	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.					
195	C,/1 B	21. spont.	?? +	-	-	-	-			sehr klein		akute Pneumonie
54	C,/6 A	21. spont.	??+?	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	groß hämorrh.	groß			O-Lappen- Pneumonie
140	C,/9 II E	22. spont.	+++	krank (19.-22.)	struppig (19.-22.)	Diarrhoe (19.-22.)	Schnupfen (13.-22.)	leicht hämorrh.	grau- rötlich			Pneumonie
337	C,/4 II C	22. spont.	+	o.B.	o.B.	o.B.	Pneumonie (11.-22.)	z.T. hämorrh.	groß braun	Läppchen- zeichnung		
545	C,/14A	25. getötet	H ++	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.					
520	C/9 I D	29. spont.	+	o.B.	o.B.	o.B.	Schnupfen (23.-29.)					
523	C,/9	29. spont.	+(+)	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.					
117	C,/9 III E	34. spont.	+	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	s.m.klein int.groß	sehr klein	atrophisch	klein	Abszesse (alt)
178	C,/IID	34. spont.	??+	krank (22.-34.)	struppig Haarausf.	o.B.	Schnupfen (9.-13.)	atrophisch	relativ groß			massive Pneumonie
225	C,/1 E	34. spont.	++	krank (10.-34.)	blaß	o.B.	o.B.					
344	C,/4 II D	35. spont.	+++(+)	o.B.	o.B.	o.B.	Schnupfen (32.-35.)	groß, z.T. hämorrh.	klein	z.t. hämorrh.		O-Lappen- Pneumonie
EFO095 - 2	C,/1 B	36. spont.	++(+)	krank (10.-36.)	blaß (7.)	o.B.	Otitis (10.-36.)	atrophisch		atrophisch		Pneumonie beidseits
- 1	C/1 F	37. spont.	++++	krank (4.-9., 22.-37.)	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.				
EFO109 138	C,/9 II E	40. spont.	++(+)	o.B.	o.B.	o.B.	Schnupfen (33.-40.)	klein	klein	sehr klein		alte Pneumonie
EFO095 - 3	C,/1 D	41. getötet	H +		blaß (12.)		Schnupfen (12.)	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
EFO109 465	C,/9 I C	57. spont.	H +	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.					

Histo-Nr.	Experiment	Todesstag n. Bestr.	Fibrose-grad	Klinische Befunde			Pathologisch-anatomische Befunde					
				Allgemeinzustand	Fell	Intestin.	Infekte	Lymphknoten	Milz	Thymus	Leber	Lunge
94	C,/5 C	73. getötet	ZS ++	o.B.	Haarausfall (41→)	o.B.	Otitis (46.→) Pneumonie (62.)	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	Pneumonie
356	C,/4 III A	80. spont.	+++(+)	krank (74.)	o.B.	o.B.	Schnupfen (44.-60.)	groß	groß braun			Abszesse
287	C,/1 D	80. spont.	++++	krank (69→)	struppig	o.B.	Schnupfen (11.) Pneumonie (14.-22.)	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	Käsige Pneumonie
289	C,/1 D	80. getötet	++(+)	krank (50→)	Haarausfall (50→)	o.B.	Kerato-Konj. Otitis (8.-27.)					
449	C,/9 III D	100. getötet	H +	krank (53.)	Haarausfall (77.)	o.B.	Otitis (96.)					
44	C,/5 C	100. getötet	+(+)	o.B.	Haarausfall (95→)	o.B.	Schnupfen (53.-64.)					
100	C/5 E	100. getötet	++++	o.B.	Haarausfall (53→)	o.B.	Pneumonie (76→)	groß	o.B.	klein		Pneumonie
266	C,/3 D	110. spont.	+++(+)	o.B.	o.B.	o.B.	Otitis (18→) Schnupfen (79.-110.)	sehr klein	extirpiert			
267	C,/3 B II	169. getötet	++++	o.B.	struppig (5.-9.)	o.B.	o.B.		groß			

Tabelle 3: Klinische und Pathologisch-anatomische Befunde an 48 Ratten mit osteomyelofibrotischen Knochenmarkveränderungen.

Die Zahlen in Klammern geben die Zeit nach Bestrahlung und Transfusion an, zu denen die Befunde erhoben wurden.

Histo-Nr.	Todes-tag	Fibrosegrad	Vorbehandlung der Suspension	Nachbehandlung der Spender
72 566 567 568 125 127 615 273 523 117 178 465 266	4 4 4 4 7 9 11 15 29 34 34 57 110	+ +++(+) +++ ??#+ + ZS + + ++(+) +(+) + ?? + H + +++(+)	Cortison in vivo von 143 Tieren 9,9 %	ab 12.Tag 1x wöchtl. Cortison ab 12.Tag 1x wöchtl. Cortison
230 - 1	16 37	++(+) ++++	Cortison in vitro von 20 Tieren 10 %	
163 195 - 2 - 3 287	16 21 36 41 80	+++ ?? + ++(+) H + ++++	Incubation von 33 Tieren 15,1%	
72	4	+	Vincristin in vivo von 12 Tieren 8 %	
289 100	80 100	++(+) ++++	Vincristin in vitro von 23 Tieren 8,7 %	
56 624 110 315 297 137 109 515 108 141 140 337 545 520 344 138 94 449 44 267	4 8 10 10 10 12 15 16 18 18 22 22 25 29 35 40 73 100 100 169	?? + ZS ++ ? + ++(+) +++((+)) + +++ ++ +++ + +++ + H ++ + +++(+) ++(+) ZS ++ H + +(+) ++++	ohne Vorbehandlung von 232 Tieren 8,6%	ab 12.Tag 1x wöchtl. Cortison ab 12.Tag 1x wöchtl. Cortison ab 12. Tag 1xwöchtl. Cortison ab 12. Tag 1xwöchtl. Cortison ab 12.Tag 1x wöchtl. Cortison
359 356	8 80	ZS ++ +++(+)	Freunds Adjuvant Freunds Adjuvant + SRBC von 15 Tieren 13,3 %	
225	34	++	Actinomycin C in vi- tro von 14 Tieren 7,1 %	
322 54	7 21	? +(+) ??#+	Strahlenkontrollen von 24 Tieren 8,4 %	

Tabelle 4: Auftreten und Häufung von Fibrosen in Abhängigkeit von der Vorbehandlung der Knochenmark-Suspension.

piges Fell, Diarrhoe und Schnupfen auf. Letzterer wird mit dem Abstand zum Bestrahlungstermin ein immer häufigeres Symptom. Pneumonien treten zwischen dem 14. und 25. Tag und später, etwa ab dem 60. Tag, häufiger auf, während pathologische Sektionsbefunde in der Lunge zu allen Zeiten gefunden werden. Weitere Infektionen, die gefunden werden, sind Otitiden und in einem Fall eine Kerato-Konjunktivitis.

Haarausfall trat erst jenseits des 40. Tages gehäuft auf. Bei den Sektionsbefunden ist die Atrophie der lymphatischen Organe zu erwähnen, die in der ersten Zeit nach Bestrahlung häufig mit Hämorrhagien, namentlich in den Lymphknoten, aber auch im Thymus, verbunden ist. Deutlich vergrösserte Milzen finden sich nur in 6 Fällen, wobei jedoch die Grösse nicht mit dem Ausmass der Knochenmarksfibrose oder der Milzhämopoese parallel geht. Eine Zusammenstellung der Befunde der einzelnen Tiere ist in Tab. 3 gegeben.

4.1.5. Bedeutung der Suspensionsvorbehandlung und anderer Versuchsbedingungen für die Fibroseentstehung

Da die Übertragung von Knochenmarkzellen bei der Entstehung einer Osteomyelofibrose in unserem Material eine Rolle zu spielen scheint, wirft sich die Frage auf, wie die Osteomyelofibrose-

tiere sich auf die einzelnen Gruppen, eingeteilt nach der Art der Vorbehandlung der Knochenmarkzellsuspensionen, verteilen. Es ergibt sich (s. Tab. 4):

Cortison in vivo:

Von 143 Tieren, deren Knochenmarkspender mit Cortisoninjektionen vorbehandelt wurden, waren 13 (= 9,9 %) fibrotisch. Die Fibrosen waren über alle Intervalle nach Bestrahlung verteilt und zeigten alle Entwicklungsgrade.

Cortison in vitro:

Hier waren die Knochenmarksuspensionen mit Cortison inkubiert. Von 20 Tieren zeigten zwei jeweils ausgeprägte Fibrose im middle-

ren Zeitintervall nach Bestrahlung.

Inkubation bei 37° C:

Von 33 untersuchten Tieren, die bei 37° C über verschiedene Zeiten inkubiertes Knochenmark erhalten hatten, waren 5 (= 15,1 %) fibrotisch. Sie zeigten alle Fibrorestufen und verteilten sich im wesentlich auf das mittlere Intervall nach Bestrahlung.

Vincristin in vivo:

Ein Tier dieser Gruppe von 12 Tieren, was 8 % entspricht, zeigt am 4. Tag nach Bestrahlung eine beginnende Fibrose.

Vincristin in vitro:

Zwei von 23 untersuchten Tieren, entsprechend 8,7 %, wiesen ausgeprägte Fibrose bzw. Sklerose auf und datierten vom 80. bzw. 100. Tag nach Bestrahlung.

Frisches Knochenmark (ohne Vorbehandlung):

Die Empfänger dieser Gruppe hatten Knochenmark erhalten, das in keiner Form vorbehandelt worden war. Von 232 Tieren waren 20 (= 8,6 %) fibrotisch. Die Tiere umfassten alle Fibrosegrade und Zeitabstände nach Bestrahlung. Auffallend ist, dass 6 der Tiere aus einer Versuchsgruppe mit 8 Tieren stammen (C₁/9 II E), von denen wiederum 5 jenseits des 12. Tages nach Bestrahlung und Transfusion eine Cortisoninjektion wöchentlich erhalten hatten.

Freunds Adjuvant:

Unter der Vorbehandlung des Spenders mit Freunds Adjuvant und/oder Hammelerythrozyten fanden sich bei zwei von 15 Tieren, entsprechend 13,3 %, am 8. bzw. 80. Tag nach Bestrahlung Fibrosen; in einen Fall vom zentralsinusoidalen Herdtyp, im anderen eine beginnende Sklerose.

Actinomycin C in vitro:

Ein Tier von 14 untersuchten Ratten zeigt am 34. Tag nach Bestrahlung eine deutliche Fibrose im Anfangsstadium.

Strahlenkontrollen:

Diese Tiere hatten der Bestimmung der LD_{100} gedient. Von 24 untersuchten Tieren zeigten zwei Knochenmarksveränderungen, die zwar nicht als osteomyelofibrotisch bezeichnet werden konnten, sich jedoch auch nicht in das sonst übliche Bild nach einer letalen Strahlendosis eingliedern liessen, weswegen diese Tiere in der Fibrosegruppe diskutiert werden sollen. Bei einem Tier fand sich 7 Tage nach Bestrahlung eine Bindegewebszunahme, ohne dass jedoch eine Reaktion der Bindegewebszellen zu bemerken gewesen wäre. Das andere Tier stammt vom 21. Tag nach Bestrahlung und weist eine geringe Vermehrung fibroblastoider Zellen auf.

Die vorliegenden Befunde deuten darauf hin, daß Knochenmarkveränderungen im Sinne einer echten Osteomyelofibrose in unserem Material zwar nur nach Letalbestrahlung mit gleichzeitiger Transfusion von Knochenmarkzellen auftreten, daß aber die Vorbehandlung der Zellsuspensionen keinen eindeutigen Einfluss auf diese Veränderungen hat. Ein Blick in Tab. 2 zeigt, dass die Mehrzahl der Fibrosetierr Zellen aus einem Gemisch von Spendern erhielt, und zwar in einem Verhältnis Einzelübertragungen/Gemischtübertragungen wie 1:3, was den Verhältnissen in der Gesamtzahl der untersuchten Tiere entspricht. Dies Verhältnis verschiebt sich bei den Fibrosetierr jenseits des 40. Tages nach Bestrahlung zugunsten der Einzelübertragung auf 1:1, während es bei den nichtfibrotischen Tieren bei 1:3 bleibt.

Ein weiterer Punkt, der aus der Tabelle 2 hervorgeht, ist die Zellzahl, die die fibrotischen Tiere jeweils transfundiert bekamen. In der Mehrzahl der Fälle sind es weniger als 1×10^8 Knochenmarkzellen, meist um $0,5 \times 10^8$ Zellen. Bei den nichtfibrotischen Tieren schwankt die Zahl übertragener Knochenmarkzellen zwischen $0,005 \times 10^8$ und $4,5 \times 10^8$.

4.2. Histologiebefunde

4.2.1. Knochenmark

4.2.1.1. Knochenmark nichtmyelofibrotischer Ratten. Zusammenfassung für die ersten 50 Tage nach Bestrahlung

Um einen "background" für die Beurteilung der myelofibrotischen Knochenmarkveränderungen zu haben, sei zunächst auf die Reaktion der Tiere ohne Myelofibrose auf Bestrahlung und Knochenmarkzelltransfusion in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach Strahlenexposition eingegangen. Es wurden jeweils mehrere Tiere pro Zeitpunkt untersucht, wobei es jedoch nicht so ist, dass der Befund eines bestimmten Zeitpunktes jeweils das Folgestadium des vorausgegangenen Zeitraumes darstellt. Eine solche Gesetzmässigkeit im Reaktionsablauf kann allenfalls für die ersten 9-10 Tage nach Bestrahlung angenommen werden, während später zusätzliche Einflüsse wie Infekte u.s.w. die Befunde ganz verschieden ausfallen lassen können. Immerhin wird deutlich, dass praktisch zu jedem Zeitpunkt nach Bestrahlung Parenchymuntergänge mit Ödembildung und Einblutungen auftreten können.

Bevor auf die Befunde zu den einzelnen Zeitpunkten eingegangen wird, sei eine Zusammenfassung für die ersten 50 Tage nach Bestrahlung vorausgeschickt:

In den ersten Tagen, etwa vom 4.-6. Tag nach Bestrahlung bestimmen Hämorrhagie bzw. Sinuserweiterung und Ödem das Bild. Hämopoetische Zellen sind nur verstreut zu sehen. Meist sind sie pyknotisch verändert. Mitosen fehlen praktisch ganz. Vom 6. Tag an wird die Fetteinlagerung deutlich. Sie nimmt bis etwa zum 10. Tag zu, um dann bis zum 15.-20. Tag mit zunehmender Regeneration des Markparenchyms wieder abzuklingen. Erste eindeutige Regenerationsansätze von der Zentralsinuswand ausgehend oder mit Beziehung zu kapillären Sinus sind ab 6. Tag zu sehen, sofern es sich um Tiere mit erhaltenem Sinusssystem handelt. Die Regeneration ist bis zum 10. Tag gut in Gang gekommen. Bis zum 20. Tag ist sie praktisch abgeschlossen. Bei den gestorbenen Tieren ist es die Erythropoese, die zu Beginn meist überwiegt. Bei den getöteten Tieren erholt

sich die Granulopoese schneller. Nach dem 15. Tag pendelt sich die Verteilung zwischen roten und weißen Vorstufen jeweils in die Norm ein. Während die Vorgänge, die man bis zum 10. Tag beobachtet, dem entsprechen, was man im Rahmen der Regenerationsprozesse nach einem Strahlenschaden erwartet, treten nach dem 10. Tag zu diesen reparativen Vorgängen erneut Ödeme und Einblutungen hinzu, die die Regeneration stören, Hämopoeseherde sekundär zugrunde gehen lassen und als Zeichen einer erneuten, sekundären Schädigung aufzufassen sind. Diese Erscheinungen treten auch zu späteren Zeitpunkten immer wieder auf.

4.2.1.2. Einzelbefunde

Im Einzelnen ergaben sich zu den verschiedenen Zeitpunkten folgende Befunde:

4. Tag nach Bestrahlung: (5 Tiere)

Die Sinuserweiterung steht im Vordergrund; Ödem befindet sich in jedem Präparat; die Hämorrhagien sind zu diesem Zeitpunkt nur mässig ausgebildet. Granulozyten sind vorhanden, aber nur in geringer Zahl. Das gleiche gilt für Erythroblasten. Mitosen sind selten. Im Präparat EF o 109/88, dessen Grundstruktur von frischem Ödem, erweiterten Sinus, klein bis mitteltropfigen Fetteinlagerungen bestimmt wird und dessen Zentralsinuswandendothel nicht gewuchert ist, findet sich neben verstreut liegenden Zellen ein grösserer Erythroblastenherd ohne deutliche Beziehung zum Sinussystem.

6. Tag nach Bestrahlung: (10 Tiere)

Die schon zu früheren Zeitpunkten vorhandene Fetteinlagerung im Knochenmark nimmt zu. Zuweilen scheint die frühe Verfestigung des Ödems aber auch die Fetteinlagerung und Hämorrhagien zu verhindern. Das Sinussystem ist teils zerstört, teils nur kollabiert oder schon wieder im Wiederaufbau begriffen. Die Zellen scheinen im oft reichlich vorhandenen Ödem unterzugehen. Hämopoetische Zellen finden sich nur selten. Sie liegen entweder vereinzelt oder verstreut, oder in Herden meistens mit Sinusbeziehung.

Vor allem der - häufig mehrschichtig begrenzte - Zentralsinus ist oft regelrecht von Hämopoese eingeschleitet. Bei den regenerierenden Zellen handelt es sich überwiegend um rote Vorstufen.

7. Tag nach Bestrahlung (10 Tiere)

Die Fetteinlagerung schreitet weiter fort und löst die zum Teil allerdings noch ausgeprägten Hämorrhagien und Ödeme ab.

8.-9. Tag: (10 Tiere)

Es hat sich zum Teil schon reines Fettmark entwickelt, in dem weder Sinusstrukturen noch Regenerationsherde zu sehen sind. Die hämorrhagischen Herde sind zumeist abgeräumt. In einzelnen Präparaten (EF o 109/59) überwiegt noch die Hämorrhagie. Die Sinus sind streckenweise erhalten und erweitert. In ihrer Umgebung liegen neben Erythroblasten einzelne, zum Teil auch in Nestern, Granulozyten.

Bis zu diesem Zeitpunkt handelt es sich um eine praktisch uniforme Reaktion aller Tiere auf Bestrahlung und Knochenmarkzelltransfusion. Die folgenden Zeitintervalle werden neben den regenerativen Vorgängen zusätzlich von Sekundäreinflüssen geprägt, die von Tier zu Tier unterschiedlich stark zur Geltung kommen können.

10.-11. Tag: (10 Tiere)

Um diese Zeit findet sich erneut ödematös verändertes Mark, in dem die gut in Gang kommende Regeneration (Mitosen: EF o 109/85) sekundär zugrunde geht. Die um den Zentralsinus angeordneten Regenerationsherde erscheinen besser erhalten als die anderen, In einzelnen Präparaten ist jedoch auch älteres, durch Faserreichtum und geringe Anfärbbarkeit charakterisiertes Ödem Ursache des Zelluntergangs.

12.-15. Tag: (7 Tiere)

Die Regeneration des Knochenmarkes ist voll in Gang gekommen. Fetteinlagerung, Ödem und Hämorrhagie sind nur noch in umschriebenen Bezirken vorzufinden. Häufig fällt Zelldetritus auf. In den Bezirken mit altem, faserreichem Ödem gehen die Zellen zugrunde.

Im ganzen sieht man rege Mitosetätigkeit in überwiegend normal erscheinenden Markübersichten. Vereinzelt finden sich noch erweiterte Sinus.

16.-20. Tag: (5 Tiere)

Grundsätzlich unterscheiden sich die Präparate nicht gegenüber den vorausgegangenen. Statt der Vorherrschaft der Erythropoese tritt ein Ausgleich, in einzelnen Fällen auch eine deutliche Verschiebung zugunsten der Granulopoese ein.

21.-30. Tag: (15 Tiere)

Die meisten Präparate entsprechen dem normalen Knochenmark. Einige, ausschliesslich spontan gestorbene Tiere, zeigen auch zu diesem Zeitpunkt Ödem und Hämorrhagie (EF o 109/131, EF o 109/453). Im Falle des Präparates EF o 109/453 handelt es sich sogar um frisches, gut anfärbbares Ödem in einer amputierten Tibia. Die Eosinophilen sind gegenüber den vorausgegangenen Tagen vermehrt.

31.-35. Tag: (10 Tiere)

In dieser Zeitspanne finden sich wieder vermehrt erweiterte Sinusoide (EF o 109/134), die zum Teil sogar zerstört sind und zu Bildung frischer Hämorrhagien führen (EF o 109/130). Die regenerierenden Knochenmarkbezirke erscheinen aufgelockert; häufig sind die Zellen blass (postmortale Veränderung?).

36.-40. Tag: (1 Tier)

Für diese Zeitspanne liegt nur ein Präparat vor, das Regeneration aufweist, aber auch geringgradige teils ältere, teils frische Hämorrhagie. Außerdem sind auch hier die Sinusoide erweitert und teilweise zerrissen.

41.-45 Tag: (6 Tiere)

Wie in dem letzten Präparat sieht man auch hier wieder gut regenerierendes Knochenmark mit vielen Mitosen, die aber sekundär in Ödem und Hämorrhagie untergehen. Es fallen viele pyknotische Zellen auf.

46.-50. Tag: (1 Tier)

Ein einzelnes Präparat, das ausser seiner ausgeprägten Granulopoese, in der die Erythropoese nahezu verschwindet, unauffällig ist.

4.2.1.3. Befunde jenseits des 50. Tages nach Bestrahlung

Während die bisherigen Präparate fast ausschliesslich von spontan gestorbenen Tieren stammten, sind die Knochenmarkschnitte der jetzt folgenden Zeitabschnitte vorwiegend durch Tötung von Tieren oder durch Amputation einzelner Extremitäten gewonnen.

51.-170. Tag: (41 Tiere)

Soweit es sich um spontan verstorbene Tiere handelt, treten auch zu diesem Zeitpunkt hin und wieder, jedoch nicht regelmässig, Sinuserweiterungen, leichte Hämorrhagien und Ödementwicklung auf (EF 0109/394). Ganz allgemein scheint die Zahl der Eosinophilen, die zum Teil in Inseln zusammenliegen, weiter zuzunehmen. Hinsichtlich der Amputationspräparate, die von Tibien stammen, könnte Verwirrung entstehen durch den zuweilen hohen Fettgehalt dieser Knochenmarkschnitte. Dieser Fettgehalt jedoch ist in Tibien bei fortschreitendem Alter der Tiere durchaus als normal zu bezeichnen. Alle anderen Präparate zeigen fast ausschliesslich normale Regenerationsverhältnisse mit unauffälligem Fettgehalt, aber zuweilen deutlich vermehrten Eosinophilenzahlen.

4.2.1.4. Myelofibrotisches Knochenmark (Kasuistik) bis zum 20. Tag nach Bestrahlung

Im Gegensatz zu der Befundung der nichtmyelofibrotischen Ratten, die an für die jeweiligen Zeitintervalle zusammengefassten Tiergruppen durchgeführt wurde, sollen die Tiere mit myelofibrotischen Veränderungen als Einzeltiere in der Reihenfolge ihres Todesdatums nach Bestrahlung untersucht werden. Dies erschien uns sinnvoll, weil die einzelnen Tiere zum Teil ganz unterschiedliche Stadien hinsichtlich des Reifegrades und der Ausbreitung der Fibrose im Knochenmark aufwiesen. Hinzu kommt der Umstand, dass in der Weltliteratur ausserordentlich selten - uns ist nur ein Fall bei

Balner (5) bekannt - die Entwicklung einer Knochenmarkfibrose unter vergleichbaren Bedingungen beschrieben wurde. Auch aus diesem Grunde soll hier eine eingehendere Beschreibung vorgenommen werden, wobei auch Fibrosen, bei denen die Diagnose unsicher war, wegen ihrer evtl. Bedeutung für das Verständnis der Pathogenese mit einbezogen wurden.

4. Tag EF 0109/56 (gestorben)

In einem ödemdurchtränkten Mark mit erweiterten aber erhaltenen Sinus findet man neben einigen Megakaryozyten, myeloischen und Plasmazellen fibroblastenartige Zellen und einige Zellen, die jungen Fibrozyten ähneln.

Beurteilung:

Eventuell, aber sehr fraglich, frühe Fibrosevorstufe.

EF 0109/72 (gestorben)

Die Grundstruktur entspricht der des Präparates EF 0109/56, aber es finden sich mehr Plasmazellen und mehr myeloische Zellen. Man sieht praktisch keine Mitosen. Auffallend sind vor allem die wirbel- und fischzugartig zwischen den erweiterten Sinus verlaufenden schlanken, spindelförmigen Zellen mit teils lockerem, teils dichterem ovalärem bis länglichem Kern, bei denen es sich um Fibrozyten unterschiedlicher Reife handelt.

Beurteilung:

Beginnende Fibrose.

EF 0109/566 (gestorben)

Bereits in der Übersichtsvergrößerung fällt die Verschiedenartigkeit der Struktur in den verschiedenen Abschnitten des Knochenmarkes auf. Die Grundstruktur des Knochenmarkes ist mit weitem Zentralsinus, der blutgefüllt und dessen Wand weitgehend zerstört ist, weiten Sinusoiden, stellenweise Hämorrhagie, Ödem und kollabierten Kapillaren weitgehend erhalten. Das eigentliche Parenchym ist in verschiedener Weise ersetzt, einerseits durch hämorrhagische Felder, andererseits durch ödematöse Infiltrate und durch Bindegewebsbildung verschiedenen Ausmasses bis zur Verknöcherung. Dieses Nebeneinander einzelner Stadien einer Fibrose ist besonders

bemerkenswert in diesem Präparat, zumal es so kurze Zeit nach Bestrahlung und Transfusion datiert. Es gibt einen Hinweis auf die mögliche Pathogenese der Osteomyelofibrose in morphologischer Sicht. Man sieht in ödematösen Bezirken die ersten fibrozytoiden Zellen. Die sklerosierten Partien schliessen Osteozyten ein; sie werden zum Teil von Osteoblasten, selten von Osteoklasten und sehr häufig von einer mehrreihigen Schicht reifer Fibrozyten umgeben. Bei stärkerer Vergrößerung finden sich nur ganz wenige hämopoetische Zellen, einige Plasmazellen, keine Megakaryozyten und Eosinophile.

Beurteilung:

Fibrosebildung aller Stadien bis zur Sklerosierung.

EF 0109/567 (gestorben)

Während an einem Ende bereits feinfaserig ausfallendes Ödem überwiegt, in dem retikuläre Zellen und vereinzelt myeloische Vorstufen auffallen, geht die Struktur zum anderen Ende hin in deutliche Faserbildung mit mehr oder weniger reifen Fibrozyten über. Hie und da finden sich einzelne, quer angeschnittene Knochenbälkchen.

Beurteilung:

Deutliche, bereits faserbildende Fibrose mit Spongiosabildung.

EF 0109/568 (gestorben)

In einem Teil des Präparates sind die mittelgradig weiten Sinusoide durch frisches Ödem deutlich voneinander abgegrenzt. Neben retikulären Zellen finden sich nur pyknotische Kerne zugrunde gegangener Megakaryozyten. Im Diaphysenbereich erscheint das Knochenmark hämorrhagisch, bei stärkerer Vergrößerung jedoch lassen sich auch noch intakte Sinusendothelien verfolgen. In einem weiteren Areal dieses Präparates, das überwiegend durch frisches Ödem gekennzeichnet ist, finden sich neben retikulären Zellen auch Zellen von Fibrozytencharakter. Eine Beziehung zu irgendwelchen Gefäßstrukturen läßt sich nicht erkennen.

Beurteilung:

Sehr fragliche Fibrosevorstufe.

7. Tag EF 0109/125 (gestorben)

Neben weiten aber erhaltenen Sinus tritt großtropfige Verfettung geringen Grades auf. Ausser einer Vermehrung von Retikulumzellen fällt das gehäufte Auftreten von Fibroblasten und spindeligen Fibrozyten unterschiedlicher Reife auf, die auch zwischen den noch vorhandenen Herden hämopoetischer Zellen liegen, die dadurch auseinandergedrängt erscheinen.

Beurteilung:

Beginnende zellreiche, faserarme Fibrose mit schwach positiver Silberfärbung.

EF 0109/322 (gestorben)

Die Hämpoese ist in diesem Präparat spärlich entwickelt. Nur vereinzelt finden sich kleine Erythroblastennester oder Gruppen myeloischer Vorstufen. Die Sinusoide sind erweitert und voneinander durch faserige Massen getrennt. Es überwiegen retikuläre Zellen. Fibroblasten oder Fibrozyten finden sich allerdings nur ganz selten. Die Silberimprägnation zeigt eine Verdichtung des retikulären Fasernetzes, die den Verdacht einer Fibrose nahelegt.

Beurteilung:

Fragliche Fibrose.

8. Tag EF 0109/624 (gestorben)

Das Präparat zeigt Sinuserweiterung, fortgeschrittene Fetteinlagerung mittlerer Tropfengrösse und mässige Regeneration mit Betonung der Myelopoese. Auffällig ist der weite Zentralsinus, dessen Wand von einer 4-fachen Zellschicht gebildet wird.

Beurteilung:

Regenerierende Zentralsinuswand. Fragliche Zentralsinuswandfibrose im Anfangsstadium.

EF 0109/359 (gestorben)

Fettige Aplasie, faseriges Ödem, blutleere Sinusoide bei einer mehrschichtig begrenzten Zentralsinuswand prägen dieses Knochenmark. In der Umgebung des Zentralsinus und der kleineren Gefäßstrukturen finden sich vereinzelt hämopoetische Zellgruppen. Dabei überwiegen rote Vorstufen. Auffällig sind die häufig auftre-

tenden, dreizipfeligen Zellen, die in das Ödem eingebettet sind und einen großen ovalären blasigen Kern mit lockerer Chromatinstruktur aufweisen. Daneben treten schlankere Zellen mit mehr spindeligen, aber ebenso aufgelockertem Zellkern auf. Bei diesen Zellen handelt es sich offenbar um Fibroblasten und Fibrozyten (junge Fibrozyten). Die Silber-Imprägnation zeigt keine eindeutige Vermehrung retikulärer Substanzen.

Beurteilung:

Frühes Fibrosestadium bei mehrschichtiger Zentralsinuswand.

9. Tag EF 0109/127 (gestorben)

In einem mehr als zur Hälfte verfetteten Mark mit geringgradig erweiterten Sinus finden sich grössere Hämopoeseherde. An einer Stelle, wohl einem Schräganschnitt des Zentralsinus, liegt eine umschriebene Fibroblasten- und Fibrozytenzone.

Beurteilung:

Bindegewebsherd, der einer gewucherten, schräg angeschnittenen Sinuswand zugehören könnte.

10. Tag EF 0109/110 (gestorben)

Das Bild dieses Präparates wird geprägt durch verbreitete myeloi-sche, aber auch erythropoetische Herde, die unterbrochen sind durch Gebiete mit großtropfigem Fett, erweiterten Sinus, geringgradiger Hämorrhagie und faserig ausgefallenem Odem. In letzterem sieht man, allerdings nicht sehr häufig, schlanke, spindelförmige Zellen.

Beurteilung:

Frühe Fibrosevorstufe mit leicht positiver Silberfärbung.

EF 0109/315 (gestorben)

Einzelne Erythroblastenherde finden sich in der Umgebung kleinerer Kapillaren in einem sonst überwiegend fettig degenerierten Mark, dessen Sinusoide blutleer sind und von faserigen Massen auseinandergedrängt werden. In diesen Massen finden sich neben verhältnismässig vielen Plasmazellen zahlreiche Fibroblasten und junge Fibrozyten. Am Rande des Schnittbildes ist die Struktur zu typischen Bindegewebsformationen fischzugartig zusammengezogen.

Reife Fibrozyten überwiegen in diesen Partien.

Beurteilung:

Deutlich beginnende Fibrose mit positiver Silberfärbung.

EF 0109/297 (gestorben)

Die überwiegend granulopoetische Regeneration ist in diesem Knochenmark durch fortgeschrittene generalisierte Fibrosierung auf wenige Herde zusammengedrängt. An einem Ende des Präparates wird bereits die Bildung osteoider Bälkchen mit der Entwicklung von Osteoblastensäumen deutlich. Die Silber-Imprägnation offenbart eine deutliche Vermehrung retikulärer Fasern, die auch in den granulopoetischen Herden zu finden sind. An einzelnen Stellen kommt es bereits zur Bildung von Kollagensubstanzen und Osteoid.

Beurteilung:

Fortgeschrittene Fibrose mit beginnender Osteoidbildung.

11. Tag EF 0109/615 (gestorben)

Der Zentralsinus in diesem Präparat ist weit und stark blutgefüllt, seine Wand nicht durchgehend erhalten. Hämopoese findet sich über das ganze Knochenmark verteilt. Sie ist vorwiegend granulopoetisch ausgerichtet und wird durch mittel- bis großtropfige Fetteinlagerung, die etwa 20 % der Schnittfläche einnimmt, sowie durch faserig ausgefallene Massen stark aufgelockert. Bei stärkerer Vergrößerung finden sich leicht verstreut, in einzelnen Gebieten allerdings auch vermehrt, Fibroblasten und junge Fibrozyten.

Beurteilung:

Fibrosefrühstadium.

12. Tag EF 0109/137 (gestorben)

Weitgehend dissoziierte Blutbildungsherde liegen in einem fetthaltigen überwiegend aplastischen Mark, dessen Zentralsinus auf weite Strecken mehrschichtig begrenzt ist. Auffallend ist das Auftreten von Fibroblasten und jungen Fibrozyten in vermehrter Zahl, sowie die für diesen Zeitpunkt grosse Zahl von Eosinophilen.

Beurteilung:

Deutliche Fibrose im Anfangsstadium.

15. Tag EF 0109/273 (gestorben)

Die Übersicht zeigt neben geringfügig erweiterten Sinusoiden eine diffuse Infiltration und Auseinanderdrängung des Parenchyms durch Fibroblasten und teilweise durch Fibrozyten und Bindegewebsfasern. Diese Infiltration nimmt von einem Ende des Präparates zum anderen zu. Im granulopoetisch ausgerichteten Parenchym fällt neben dem Vorhandensein von Retikulumzellen und Fibroblasten die Rechtsverschiebung und häufige Doppelkernigkeit der Zellen sowie die niedrige Mitoserate auf. Eosinophile sind in geringer Zahl vorhanden.

Beurteilung:

Diffuse Fibrose.

EF 0109/109 (gestorben)

Eine systematisierte, faserreiche aber zellarme, meist reife Fibrozyten aufweisende Fibrose umschliesst letzte Restehämopoetischer Zellen, einige Fettzellen und wenige, meist leere und weite Sinus.

Beurteilung:

Deutliche allgemeine Fibrose.

16. Tag EF 0109/515 (gestorben)

In dem Präparat, dessen Sinusoide mässig weit und blutgefüllt sind, werden die hämopoetischen Zellen mehr oder weniger stark auseinandergedrängt von Zellen mit teils blasigem ovalärem Kern, teils schlankem, spindeligen dichten Kern. Viele der Zellen mit weniger dichtem ovalärem Kern weisen die typischen dreieckförmigen Zellplasmafortsätze der Fibroblasten auf.

Beurteilung:

Frühe, aber bereits deutliche Fibrose mit beginnender Faserbildung.

EF 0109/163 (gestorben)

Das Bild dieses Präparates wird geprägt durch eine fortgeschrittene faserreiche und zellarme Fibrose im überwiegend aplastischen Mark mit leeren Sinusoiden und einem Zentralsinus, dessen Wand auf mehrere Schichten verdickt ist. Die nur geringgradig vorhandene granulopoetische Hämopoese besteht überwiegend aus jungen Vorstufen. Daneben finden sich einige Plasmazellen.

Beurteilung:

Diffuse fortgeschrittene Fibrose.

EF 0109/230 (gestorben)

Das Knochenmark dieses Tieres ist weitgehend verfettet, die Sinusoide sind blutleer. Regenerationsherde finden sich nur an wenigen Stellen der Umgebung von Kapillaren. Das ganze Präparat ist durchzogen von Fasern und durchsetzt mit Fibroblasten und jungen Fibrozyten.

Beurteilung:

Deutliche, bereits faserbildende Fibrose.

18. Tag EF 0109/108 (gestorben)

Einige Metamyelozyten und Normoblasten sowie Erythrozyten findet man noch in der generalisierten Fibrose dieses Markes, in dem man neben reiferen auch jüngere Fibrozyten und Fibroblasten findet. Die Kapillaren sind nicht kollabiert, aber fast blutleer.

Beurteilung:

Generalisierte Fibrose.

EF 0109/141 (gestorben)

Die offenbar rege Regeneration ist an vielen Stellen von Odem oder von Fibroblasten und fibrozytenartigen Zellen durchsetzt, auseinandergedrängt oder gar ersetzt.

Beurteilung:

Deutliche Fibrosevorstufe.

19. Tag EF 0109/115 (getötet)

Vor allem die große Zahl von Retikulumzellen fällt in diesem Präparat ins Auge. Fibroblasten und Fibrozyten sind nicht so deutlich vermehrt, aber vorhanden. Diese Zellen verursachen eine Dissoziation der Hämopoesezellen.

Beurteilung:

Junge, nur stellenweise deutlich beginnende Fibrose mit positiver Silber-Imprägnation.

21. Tag EF 0109/195 (gestorben)

Die Sinusoide in diesem Präparat sind teilweise weit und blutgefüllt und teilweise zerstört. Die Kapillaren sind erweitert. Die erythropoetisch ausgerichtete Regeneration tritt nur diffus auf,

gestört durch hämorrhagische Felder und ödematöse Infiltrate. Vor allem in den ödematösen Bezirken sind Fibroblasten und Retikulumzellen über das Maß, das man aufgrund der Zellentblößung erwarten würde, hinaus vermehrt.

Beurteilung:

Fraglich beginnende Fibrose.

EF 0109/54 (gestorben)

Neben Anteilen mit zusammenhängender Hämopoese, und zwar vornehmlich Granulopoese mit Anzeichen von Degeneration in den Zellkernen, findet man durch Hämorrhagien zerstörte Gebiete. An einigen Stellen sieht man einige fibroblasten- und fibrozytenähnliche Zellen, die aber wahrscheinlich einer tangential angeschnittenen Gefäßwand angehören. Die Silberfärbung ist negativ.

Beurteilung:

Wohl keine Fibrose.

4.2.1.5. Zusammenfassende Beurteilung:

Abgesehen vom Intensitätsgrad der ausgebildeten Fibrose wird das Bild praktisch eines jeden Präparates durch Ödem, das sich gut anfärbt, gekennzeichnet. In ihm finden sich neben zugrundegehenden Hämopoeseherden in wechselnder Zusammensetzung Retikulumzellen, Fibroblasten und Fibrozyten. Der Beginn der Regeneration fällt zeitlich mit dem in nichtfibrotischen Tieren zusammen, nur dass die sich bildenden Herde zugrundegehen. Die Granulopoese scheint gegenüber der Erythropoese bis zum 15. Tag zu überwiegen.

4.2.1.6. Myelofibrotisches Knochenmark (Kasuistik) jenseits des 20. Tages nach Bestrahlung

22. Tag EF 0109/337 (gestorben)

Neben regional verstärkter Fetteinlagerung ist es vor allen Dingen die Infiltration überwiegend reifer Fibrozyten, die die Regenerationsherde des Marks auseinander- und zurückgedrängt hat. Zur Faserbildung ist es in diesem Präparat noch nicht gekommen, vielmehr hat es den Anschein, als seien die Zellen in faserig ausge-

fallenes Ödem eingebettet.

Beurteilung:

Deutliche Fibrose im Anfangsstadium.

24. Tag EF 0109/140 (gestorben)

Eine ausgeprägte, zellarme aber fassereiche Fibrose bestimmt das Bild. Nur einzelne kleine Hämopoeseherde existieren noch. Die Kapillaren sind erhalten und zum Teil blutgefüllt. Die Sinus sind nur in Einzelfällen, und dann meist erweitert aber blutleer, zu sehen.

Beurteilung:

Ausgeprägte Fibrose.

25. Tag EF 0109/545 (getötet)

In einem im übrigen unauffälligen Knochenmarkschnitt findet sich im Randgebiet ein länglich-schmaler umschriebener Fibroseherd mit Fibrozyten mittlerer Reife, deren Kerne bereits schlank gezogen, aber durchscheinend hell sind. Die Umgebung dieses Herdes ist etwas aufgelockert, aber nur an wenigen Stellen deutlich von fibrozytenähnlichen Zellen infiltriert. Lage und Verlauf des Herdes lassen es unwahrscheinlich erscheinen, daß er dem nicht angeschnittenen Zentralsinus angehören könnte.

Beurteilung:

Umschriebener Fibroseherd mit vermehrten Retikulinfasern.

29. Tag EF 0109/520 (gestorben)

Bei kleiner Vergrößerung fällt in diesem Präparat neben weitem Zentralsinus, weiten Sinusoiden und geringgradiger Hämorrhagie die Unruhe im Aufbau des Knochenmarkparenchyms auf. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man blass angefärbte teils homogene, teils faserig erscheinende Massen, die die Hämopoesezellen aus ihrem Verband lösen, und die Ursache für das unruhige Strukturbild darstellen. In diese Massen sind verstreut und nicht sehr zahlreich Zellen eingelagert, deren Kerne meist rundblasig durchscheiden und mit einigen wenigen Granula versehen sind, in anderen Fällen wieder länglich und dichter erscheinen.

Beurteilung:

Vorstufe einer Fibrose.

EF 0109/523 (gestorben)

Das Parenchym dieses Knochenmarkpräparates wird bereits deutlich durch faserig strukturierte Massen, teils diffus auseinandergedrängt, teils bereits vollständig ersetzt. Die in diese Massen eingelagerten Zellen sind in der Mehrzahl länglich, enthalten dichte Kerne und sehen morphologisch wie junge Fibrozyten aus.

Beurteilung:

Deutliche Fibrose im Anfangsstadium.

34. Tag EF 0109/117 (gestorben)

Es handelt sich um ein Präparat, in dem die rege Hämopoese normaler Zusammensetzung von homogen hell anfärbbarem, aber auch faserigem Material auseinandergedrängt wird. Dort, wo die Hämopoese besonders stark gestört ist, sind zahlreiche weite Sinus, die mit Blut gefüllt sind, zu sehen. Auffällig ist die Zahl der Eosinophilen. An einigen Stellen sind deutlich Fibroblasten und junge Fibrozyten zu sehen.

Beurteilung:

Junge Vorstufe einer Fibrose.

EF 0109/178 (gestorben)

Das Parenchym zeigt bei Übersichtsvergrößerung lediglich eine geringgradige Dissoziation durch ödematöse Infiltrate. Darüber hinaus erscheinen die Kapillaren etwas verdickt. Bei stärkerer Vergrößerung finden sich verstreut, vor allem aber in den ödematösen Inseln, Zellen mit rundem ovalem oder sogar länglich schlankem Kern, dessen Struktur in der Mehrzahl durchscheinend locker und feinstrukturiert ist. Das Auftreten dieser Zellen lässt an eine Fibrose im frühen Stadium denken. Die Zahl der eosinophilen Granulozyten ist gegenüber der Norm vermindert.

Beurteilung:

Fragliches, sehr frühes Fibroestadium.

EF 0109/225 (gestorben)

Eingebettet in faserig ausgefallenem Ödem finden sich Fibroblasten und Fibrozyten verschiedenen Alters leicht diffus und nur selten

in zusammenhängenden Verbänden. Unter den diffus verstreuten Parenchymzellen stechen Plasmazellen und Eosinophile hervor, die einen hohen Anteil an der Gesamtzahl kernhaltiger Zellen haben.

Beurteilung:

Zellreiche, junge Fibrose.

35. Tag EF 0109/344 (gestorben)

Die Regeneration in diesem Präparat ist durch eine fortgeschrittene faser- und zellreiche Fibrose weitgehend unterdrückt. Das Präparat weist bereits verknöchernde Bezirke auf, deren Übergang in die fibrösen Strukturen durch eosinophil angefärbte Granula (Calzium) gebildet wird. In diesen Granula sind zuweilen noch fibroblasten- und fibrozytenähnliche Zellen erkennbar (Osteocyten), die an einer oder mehreren Seiten bereits von Knochenmassen ummauert werden.

Beurteilung:

Fortgeschrittene, bereits sklerosierende Fibrose.

36. Tag EF 0095/2 (gestorben)

Eine deutliche, feinfaserige Fibrose durchzieht diffus das gesamte Mark. Die hämopoetischen Stellen sind verblasst oder untergegangen. Vereinzelt sieht man angehäuft Eosinophile.

Beurteilung:

Deutliche Fibrose.

37. Tag EF 0095/1 (gestorben)

Eine fortgeschrittene, fast zellfreie aber faserreiche, in Wirbeln und Zügen verlaufende Fibrose, deren kompaktes Faserbild an Osteoid erinnert, prägt das Bild. In einem Areal gibt es noch von Ödem auseinandergedrängte Hämopoese, deren Zellkerne weitgehend pyknotisch erscheinen.

Beurteilung:

Sklerosierende Fibrose.

40. Tag EF 0109/138 (gestorben)

In diesem Präparat finden sich ein weiter Zentralsinus und durch Fibrozyten und Fasern infiltrierte Hämopoesefelder.

Beurteilung:

Deutliche Fibrose in geringer Ausdehnung.

41. Tag EF 0095/3 (getötet)

In einem stark eosinophilen Mark findet sich ein umschriebener, eiförmiger, gut abgegrenzter Fibrosebezirk mit jungen Fibrozyten und leichter hämorrhagischer Infiltration.

Beurteilung:

Herdfibrose.

57. Tag EF 0109/465 (gestorben)

Die Sinusoide dieses Präparates sind geringgradig erweitert; diffus verteilt tritt blass anfärbbares Ödem auf, auch einige ins Parenchym ausgetretene Erythrozyten finden sich hie und da. Ein grösserer, in der Peripherie des Markes gelegener, runder Herd zieht das Augenmerk auf sich, dessen Zentrum aus hellrosa gefärbten Massen besteht, die kaum Zellen enthalten und die umgeben sind von einer zellreichen zumeist aus Fibroblasten und Fibrozyten bestehenden Zone. Ausser diesem Herd existiert ein weiterer kleiner in der Nähe einer Kapillare, der, unscharf begrenzt, aus in faserigen Massen eingelagerten ovalen bis dreizipfeligen Zellen besteht, deren Kerne verschiedene Grösse und Dichte aufweisen.

Beurteilung:

Herdförmige Fibrose?

73. Tag EF 0109/94 (getötet)

Von der enorm verdickten Wand des Zentralsinus strahlen, häufig mit dem Verlauf der kleineren Sinus recti, aber auch diffus Züge von Fibrocyten verschiedenen Alters in das rege regenerierende, nur mässig verfettete Mark aus, in dem lediglich die weiten, starr wirkenden und nur wenig blutgefüllten Sinusoide auffallen.

Eosinophile sind nur an einigen Stellen vermehrt vorzufinden.

Beurteilung:

Deutliche Fibrose mit Beziehung zum Zentralsinus.

80. Tag EF 0109/356 (gestorben)

Die offensichtlich zunächst vollständig gewesene Regeneration

wird von einem Ende des Präparates zum anderen zunehmend durch fibrotische Strukturen auseinandergedrängt. Während an einem Ende des Präparates noch die wie Ödem wirkenden Massen, Fibroblasten und unreife Fibrocyten überwiegen, prägen reife Zellen, die bereits Fasern bilden, das andere Ende des Präparates. Etwa in der Mitte des Knochenmarkes befindet sich ein Bezirk, in dem es zu Osteoidbildung und Verknöcherung gekommen ist. Das Osteoid weist Säume aus Osteoblasten auf.

Beurteilung:

Fibrose in fortgeschrittenem Stadium mit beginnender Sklerosierung.

Etwa 80. Tag EF 0109/287 (gestorben)

Ein Präparat, dessen Parenchym durch ausgeprägte Trabekelbildung und durch ausgeprägte faserreiche Fibrosierung ersetzt ist. Nur in einem umschriebenen Bereich findet sich noch ein Regenerationsherd, der aber auch schon durch ödematös wirkende Massen einerseits und durch Infiltration von Bindegewebszellen mit beginnender Faserbildung andererseits in Dissoziation übergeht.

Beurteilung:

Sehr weit fortgeschrittene Osteomyelosklerose.

EF 0109/289 (gestorben)

Das Präparat erscheint abgesehen von weiten Sinusoiden, verdickten Kapillarwänden und einer etwas verdickten Zentralsinuswand über weite Strecken normal. An einem Ende jedoch tritt eine ödembedingte Dissoziation des Parenchyms auf, die in ein Gebiet junger faserbildender Fibrose übergeht.

Beurteilung:

Bereits faserbildende Myelofibrose.

100. Tag EF 0109/44 (getötet)

Ubiquitär über das mitosenreiche, regenerierende Mark verteilt führen Fibroblasten mit bereits geringgradiger Faserbildung zu mehr oder weniger ausgeprägter Zelldissoziation. Die Eosinophilenzahl ist gegenüber nicht fibrotischen Tieren eher erniedrigt.

Beurteilung:

Beginnende Fibrose.

EF 0109/100 (getötet)

Mit dem Zentralsinus in Verbindung stehende trabekelartig angelegte fortgeschrittene Fibrose zeichnet dieses Präparat aus. Sie ist teils faserig, teils osteoid, zum Teil auch schon fast sklerotisch ausgebaut. Den Trabekeln angelagert sind fibroblasten- oder fibrozytenähnliche Zellen. In den spongiosaähnlichen Balken werden Zellen mit rundovalem bis schlankem, hellem, fein strukturiertem Kern (Osteozyten) eingeschlossen. Die inselförmig eingeschnürte Hämopoese weist massenhaft Eosinophile auf.

Beurteilung:

Sklerosierende Fibrose.

EF 0109/449 (getötet)

In dem ansonsten unauffälligen Knochenmarkschnitt findet sich ein kleiner umschriebener Herd von fibrozytenähnlichen Zellen in einer homogenen, höchstens feinfaserig zu nennenden Grundmasse.

Beurteilung:

Fragliche beginnende, herdförmige Fibrose.

110. Tag EF 0109/266 (gestorben)

Das Präparat zeigt eine generalisierte Fibrose, die in ihrer Ausprägung von einem Ende zum anderen zunimmt und stellenweise in Sklerosierung übergegangen ist. Die Regenerationsherde sind auseinandergedrängt bzw. vollständig verschwunden. Sinusoide und Kapillaren sind erweitert.

Beurteilung:

Faser- und zellreiche Fibrose mit geringer Sklerosierung.

169. Tag EF 0109/267 (getötet)

Es handelt sich um ein Präparat, in dem neben aktiver Regeneration alle Stufen einer Fibrose von bloßer Fibrozyten- und Fibroblasten-einlagerung über deutliche Faserbildung, Osteoidbildung und Sklerosierung vorhanden sind. Es ist auffallend, daß der Sklerosierungsprozess seinen Ausgang in der Peripherie, in vivo also von der Knochenmanschette, nimmt.

Beurteilung:

Sklerosierende Fibrose.

Gruppe und Tier-Nr.	Todestag nachBe- strahlung	Fibrose- grad
I. Herdförmig (545)	25	Herd ++
3	41	Herd +
465	57	Herd +
II. Vom Zentral- sinus aus- gehend	624	ZS ++
359	8	ZS ++
127	9	ZS ++
(163)	16	(ZS) +++
(545)	25	(ZS) ++
94	73	ZS ++
III. Disseminiert	523	+{+}
44	100	+{+}
IV. Diffus mit Hämopoese	72	+
567	4	+++
125	7	+
110	10	+
315	10	++(+)
297	10	+++((+))
615	11	+
137	12	+
273	15	++(+)
515	16	++
163	16	+++
108	18	+++
141	18	+
115	19	+
140	22	+++
337	22	+
520	29	+
117	34	+
2	36	++(+)
138	40	++{+}
289	80	++(+)
266	110	+++((+))
V. Diffus ohne Hämopoese	566	+++(+)
109	15	+++
230	16	++(+)
225	34	++
VI. Sklerosierend	(566)	+++(+)
(297)	10	+++((+))
344	35	+++(+)
1	37	++++
356	80	+++(+)
287	80	++++
100	100	++++
267	169	++++

Tabelle 5: Einteilung der Osteomyelofibrosen entsprechend ihres Verteilungsmodus im KM-Parenchym.

4.2.1.7. Zusammenfassende Beurteilung der Präparate jenseits des 20. Tages nach Bestrahlung

Auch in den Präparaten, die von späteren Zeitpunkten datieren, findet sich neben den typisch fibrotischen Veränderungen und Hämo-
poeseherden in fast allen Präparaten Ödem, das jetzt allerdings häufiger als zu früheren Zeitpunkten bei der Anfärbung blasser wirkt und eine ausgefällte unregelmässig feinfaserige Beschaffenheit aufweist.

4.2.1.8. Besprechung der bei den Myelofibrosetieren gefundenen Ergebnisse

4.2.1.8.1. Verteilungsmodus der Fibrose im Knochenmark

Nach der Art ihrer Verteilung im Knochenmark und je nachdem, ob die Fibrose mit Knochenmarkhämo-
poese vergesellschaftet war oder diese schon weggedrängt bzw. ersetzt hatte, wurden die Fibrosefäll-
le in sechs Gruppen eingeteilt (Tabelle 5):

1. Herdförmig:

Dazu gehören: EF 0109/449; /465; (/545); EF 0095/3

2. Vom Zentralsinus ausgehend:

Dazu gehören: EF 0109/127; /359; /624; /94; (/545; /163)

Die in Klammern aufgeführten Nummern betreffen Tiere, die in mehrere Gruppen eingeordnet werden könnten. So handelt es sich z.B. bei Tier EF 0109/545 um einen Fibroseherd, der möglicherweise einen Tangentialschnitt durch die Sinuswand darstellt, und bei Tier EF 0109/163 um eine diffuse, mit Hämo-
poese verbundene Fibrose, die auch den Zentralsinus in erheblichem Maße be-
trifft.

3. Disseminiert:

Dazu gehören: EF 0109/44; /523

4. Diffus mit Hämo- poese:

Dies ist die stärkste Gruppe und umfasst die Tiere: EF 0109/117; /110; /520; /72; /125; /615; /523; /515; /137; /141; /273; /297; /138; /115; /337; /140; /108; /289; /266; /567; /EF 0095/2

5. Diffus ohne Hämo- poese:

Dazu gehören: EF 0109/566; /255; /109; /230

Histo-Nr.	Todestag n. Bestrahlung	Knochenmark- fibrose	Hämopoese in		
			Milz	Lymphknoten	Leber
56	4	?? +	-	-	fehlt
72	4	+	-	-	fehlt
566	4	+++(+)	-	-	-
567	4	+++	-	-	-
568	4	???+	-	-	-
125	7	+	-	-	fehlt
322	7	? +(+)	-	fehlt	-
624	8	ZS ++	-	-	-
359	8	ZS ++	-	fehlt	-
127	9	ZS +	+	-	fehlt
110	10	? +	++	-	fehlt
315	10	++(+)	-	-	-
297	10	+++((+))	(+)	-	-
615	11	+	(+)	(+)	+
137	12	+	+	-	fehlt
273	15	+++(+)	+(+)	-	-
109	15	+++	+++	((+))	fehlt
515	16	++	+	fehlt	-
163	16	+++	++	-	(+)
230	16	++(+)	fehlt	+	fehlt
108	18	+++	+(+)	-	fehlt
141	18	+	++(+)	fehlt	fehlt
115	19	+	+	-	fehlt
195	21	?? +	++	+	fehlt
54	21	???+	fehlt	-	-
140	22	+++	+(+)	++(+)	fehlt
337	22	+	++	++	+
545	25	Herd ++	+(+)	-	(+)
520	29	+	+(+)	-	-
523	29	+(+)	++	+	-
117	34	+	++	-	-
178	34	?? +	(+)	+(+)	-
225	34	++	fehlt	++	fehlt
344	35	+++(+)	++(+)	(+)	fehlt
- 2	36	++(+)	+++	+	fehlt
- 1	37	++++	+(+)	+	fehlt
138	40	++(+)	+++	+	fehlt
- 3	41	Herd +	fehlt	(+)	fehlt
465	57	Herd +	fehlt	fehlt	fehlt
94	73	ZS ++	-	-	-
356	80	+++(+)	++++	-	++
287	80	++++	-	-	-
289	80	++(+)	fehlt	-	-
449	100	+	-	-	-
44	100	+(+)	++++	-	-
100	100	++++	+++(+)	-	-
266	110	+++(+)	fehlt	-	-
267	169	++++	(+)	-	-

Tabelle 6: Vergleich der extramedullären Hämopoese mit dem Grad der Osteomyelofibrose im Knochenmark

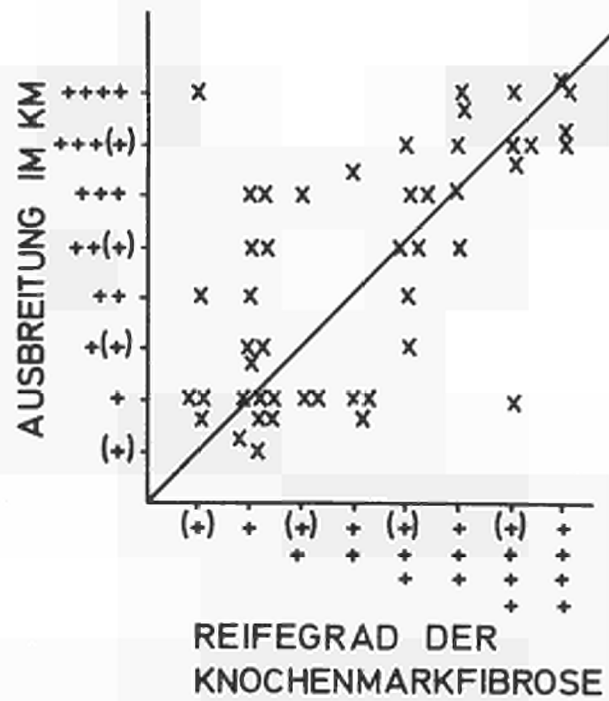


Abb. 16

Beziehung zwischen dem Grad der Ausbreitung und der Reife der Knochenmarkfibrose in den einzelnen Tieren mit KM-Fibrose.

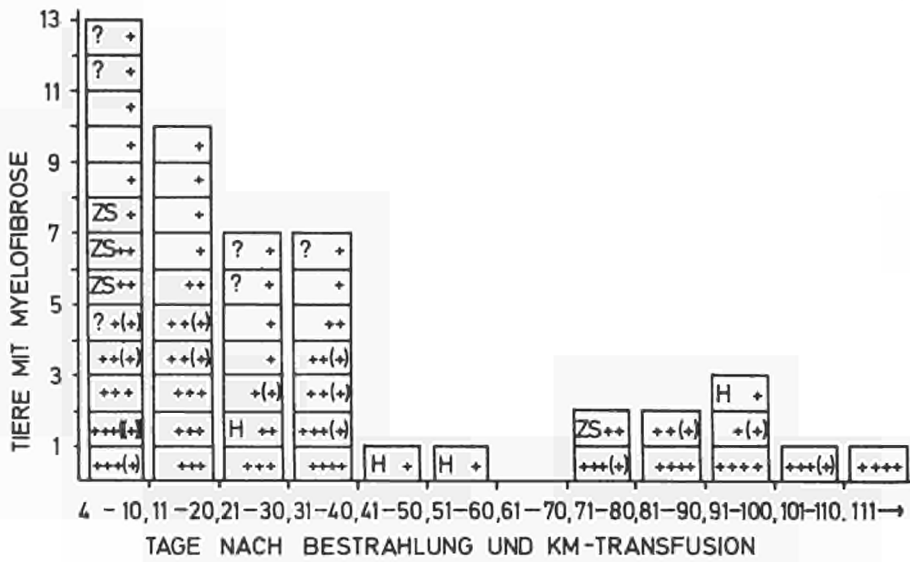


Abb. 17

Häufigkeit des Auftretens von Osteomyelofibrosen in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach Bestrahlung und KM-Zelltransfusion. In den Kästen ist der jeweilige Reifegrad der Myelofibrose aufgeführt.

6. Sklerosierende Fibrosen:

Hierher gehören: EF 0109/267; /287; /100; /356; /344;
EF 0095/1; (EF 0109/566; /297)

Nur solche Tiere, die eine beginnende Fibrose oder deutlichere Fibrorestadien aufwiesen, wurden in der Einteilung erfasst. Die übrigen Tiere, die ein fragliches Frühstadium einer Fibrose aufweisen, sind folgende:

EF 0109/54; /56; /178; /195; /322; /568.

In Tabelle 5 sind die Tiere in den einzelnen Gruppen jeweils mit dem Reifegrad ihrer Fibroseausbildung aufgeführt. Es ergeben sich keine eindeutigen zeitlichen Beziehungen zwischen der Fibroseform und dem Zeitpunkt des Auftretens.

4.2.1.8.2. Fibroseggrad und extramedulläre Blutbildung

Tabelle 6 setzt den Grad der extramedullären Blutbildung mit dem Grad der Fibroseentwicklung im Knochenmark in Beziehung. Auch in diesem Fall kann nicht von einer gesetzmässigen Abhängigkeit der extramedullären Hämopoese vom Grad der Fibrose gesprochen werden.

Eine Gegenüberstellung des Entwicklungsgrades der Fibrose entsprechend der im Abschnitt "Material und Methoden" gegebenen Einteilung mit dem jeweiligen Grad der Ausbreitung im Knochenmark ergibt eine grobe Parallelität zwischen Reife und Ausdehnung der Fibrose, wie Abb. 16 zeigt.

Infolge dieser Abhängigkeit werden wir im weiteren nur noch vom (Intensitäts-) bzw. Reifegrad der Fibrose sprechen und ihren Ausbreitungsgrad im Knochenmark bei den Untersuchungen unberücksichtigt lassen.

4.2.1.8.3. Fibrose in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach Bestrahlung

Abb. 17 zeigt die Verteilung der Osteomyelofibrosen auf die einzelnen Zeitpunkte nach Bestrahlung, eingeteilt in Zeitspannen von

Histo-No.	Todestag n. Bestrahlung	Knochenmark	Milz	Lymphknoten	Leber
56	4	?? +	-	-	fehlt
72	4	+	-	-	fehlt
566	4	+++(+)	++++	-	-
567	4	+++	++++	-	- -
568	4	??#+	-	-	-
125	7	+	-	-	fehlt
322	7	? +(+)	-	fehlt	-
624	8	ZS ++	-	-	-
359	8	ZS ++	-	fehlt	-
127	9	ZS +	-	-	fehlt
110	10	? +	-	-	fehlt
315	10	++(+)	+++	-	- -
297	10	+++((+))	-	-	-
615	11	+	-	-	-
137	12	+	-	-	fehlt
273	15	++(+)	++	-	-
109	15	+++	++	-	fehlt
515	16	++	-	fehlt	-
163	16	+++	-	-	-
230	16	++(+)	fehlt	-	fehlt
108	18	+++	-	-	fehlt
141	18	+	-	fehlt	fehlt
115	19	+	-	-	fehlt
195	21	?? +	-	-	fehlt
54	21	??#+	fehlt	-	-
140	22	+++	-	-	fehlt
337	22	+	-	-	-
545	25	Herd ++	-	-	-
520	29	+	-	-	-
523	29	+(+)	-	-	-
117	34	+	-	-	-
178	34	?? +	-	-	-
225	34	++	fehlt	-	fehlt
344	35	+++(+)	++	-	fehlt
2	36	++(+)	-	-	fehlt
1	37	++++	-	-	fehlt
138	40	++(+)	-	-	fehlt
3	41	Herd +	fehlt	-	fehlt
465	57	Herd +	fehlt	fehlt	fehlt
94	73	ZS ++	++	-	-
356	80	+++(+)	-	-	-
287	80	++++	-	-	-
289	80	++(+)	fehlt	-	-
449	100	+	+++	-	-
44	100	+(+)	-	-	-
100	100	++++	+(+)	-	-
266	110	+++(+)	fehlt	-	-
267	169	++++	++++	-	-

Tabelle 7: Fibrosierung einzelner Organe in Ratten
mit Osteomyelofibrose.

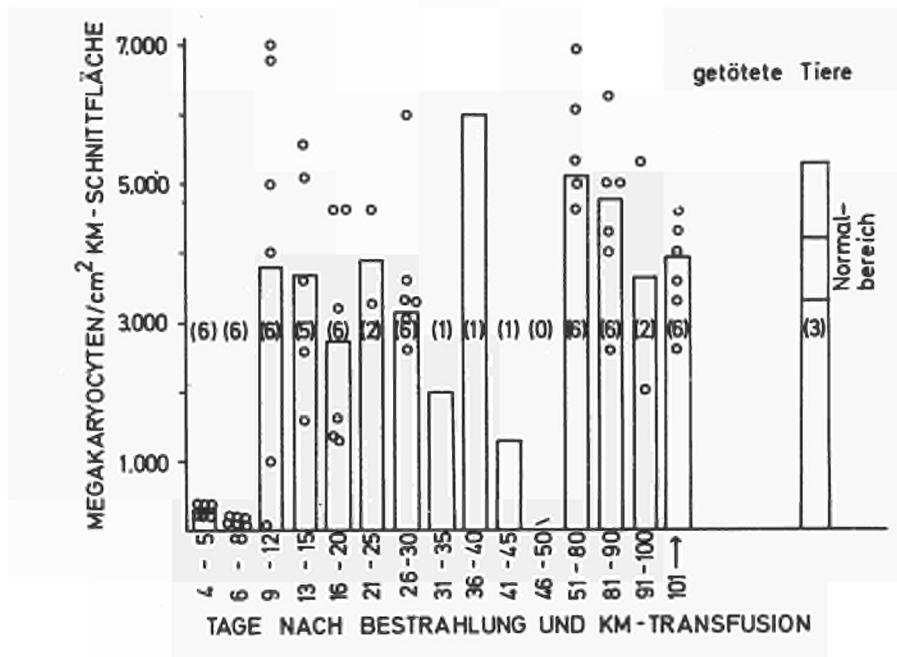


Abb. 18

Megakaryozyten im Knochenmark getöteter, nichtmyelofibrotischer Ratten. In Klammern sind die jeweiligen Zahlen der pro Zeitpunkt untersuchten Tiere angeführt.

o = Einzelwerte

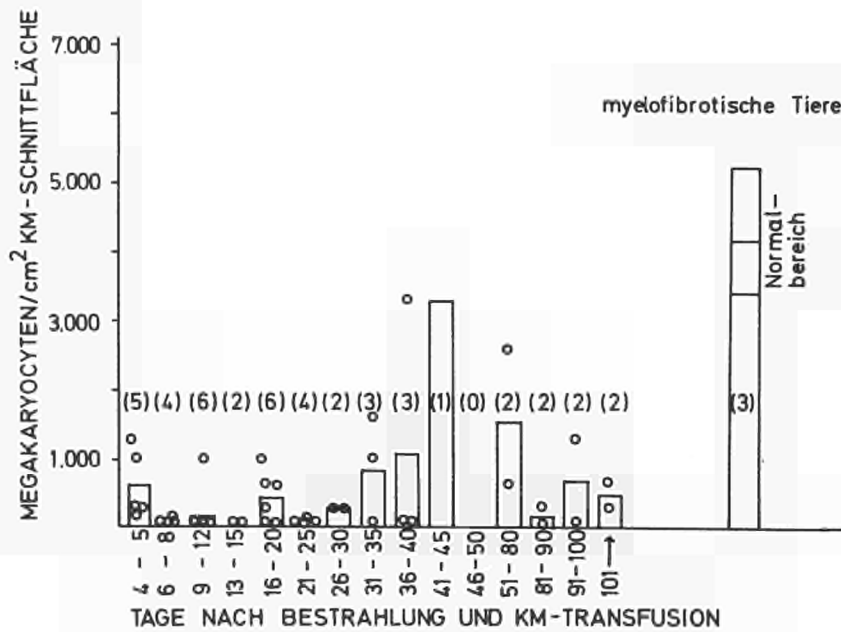
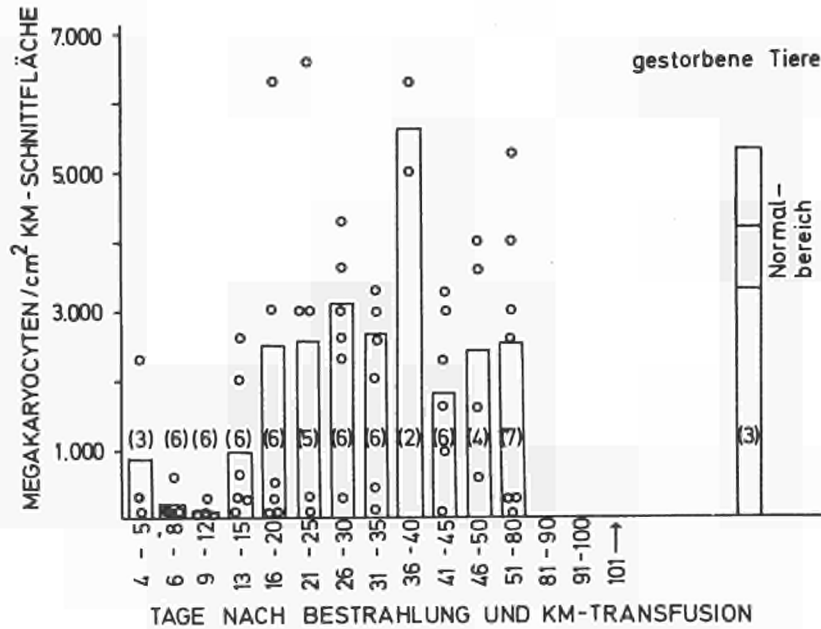


Abb. 19/20

Megakaryozyten im Knochenmark gestorbener Ratten ohne Myelofibrose (Abb. 19) sowie von Ratten mit Osteomyelofibrose (Abb. 20).

je 10 Tagen. Es zeichnen sich zwei Gruppen ab. Eine Gruppe innerhalb der ersten 40 Tage nach Bestrahlung, die 37 Tiere oder 75 % des gesamten Materials umfasst. Eine zweite Gruppe findet sich auf die Intervalle jenseits des 70. Tages nach Bestrahlung verteilt, die 9 Tiere oder 18,7 % ausmacht.

4.2.1.8.4. Fibrose in einzelnen Organen

Tab. 7 stellt die Fibrosebildung einzelner Organe gegenüber. Die Befunde in den anderen Organen sind im Einzelnen in den jeweiligen noch folgenden Abschnitten aufgeführt. Es lässt sich eine Gesetzmässigkeit höchstens insofern feststellen, als Milzfibrosen fast nur bei deutlich bis stark ausgeprägten Knochenmarkfibrosen vorkommen, während leichte Markfibrosen im Anfangsstadium nur in einem Fall eine fibrosierte Milz aufwiesen. Es muss aber bemerkt werden, dass fibrotische Milzen auch in myelofibrosefreien Tieren auftreten.

4.2.1.9. Quantitative Befunde im Knochenmark getöteter, gestorbener und myelofibrotischer Ratten

4.2.1.9.1. Regeneration

Wenn man die Regenerationsverhältnisse im Knochenmark getöteter, spontan gestorbener und fibrotischer Ratten miteinander vergleicht und als einen Maßstab die Zahl der Megakaryozyten/cm² Schnittfläche heranzieht, so ergibt sich folgendes Bild: (Abb. 18-20):

Bei allen drei Gruppen sind am 4./5. Tag zunächst noch einige Megakaryozyten im Mark anzutreffen. Ihre Zahl sinkt bei den gestorbenen Tieren bis zum 9.-12. Tag auf ein Minimum ab, bei den zwei anderen Kollektiven ist sie bereits zwischen dem 6./8. Tag gleich null. Der Wiederanstieg der Zellen verläuft unterschiedlich. Die Megakaryozytenzahl bei den gestorbenen Tieren (Abb. 19) steigt allmählich bis zum 26.-30. Tag auf im Mittel subnormale Werte, um sich nach kurzem Absinken auf ein noch höheres Niveau zu steigern, das die Norm übersteigt. In der Spätphase bewegen sich die Zahlen wieder niedrig, etwa bei der Hälfte des Normaldurchschnitts.

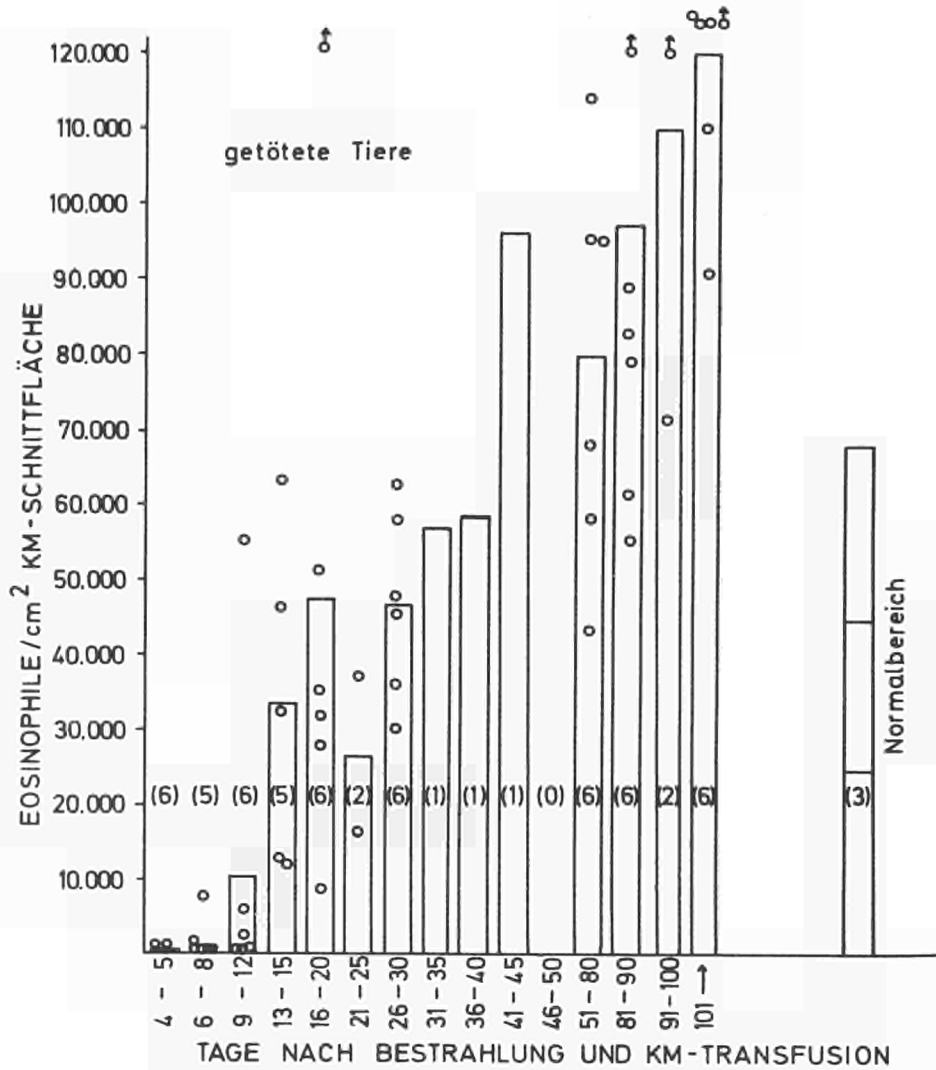


Abb. 21

Eosinophile Granulozyten pro cm² Knochenmarkschnittfläche bei getöteten Ratten ohne Osteomyelofibrose. Die Pfeile bei einigen Einzelwerten deuten an, daß sie noch über den wiedergegebenen Meßbereich hinausgehen.

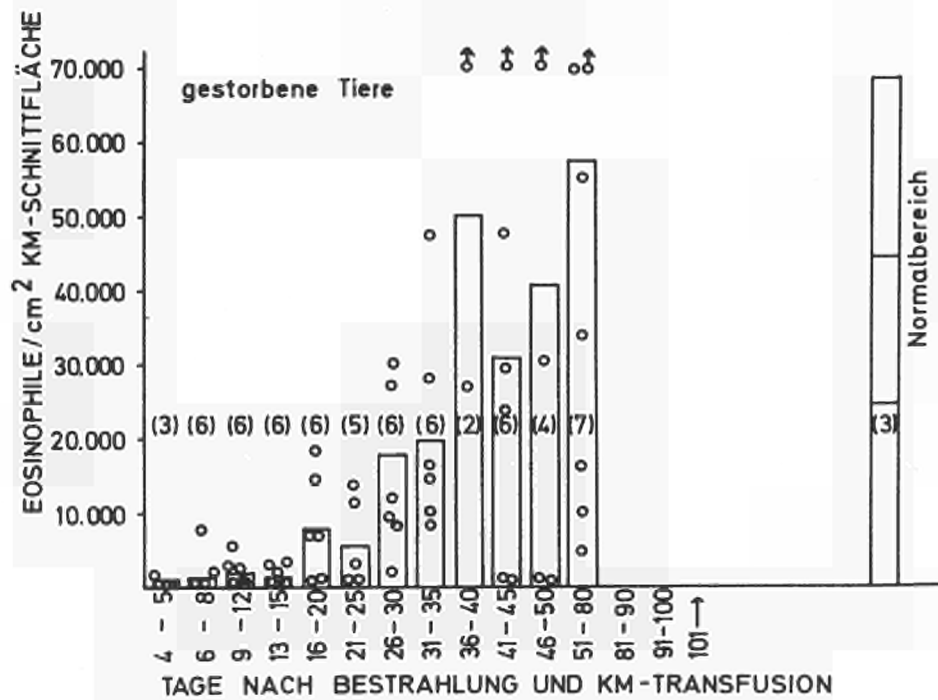


Abb. 22

Eosinophile Granulozyten im Knochenmark gestorbener Tiere ohne Osteomyelofibrose.

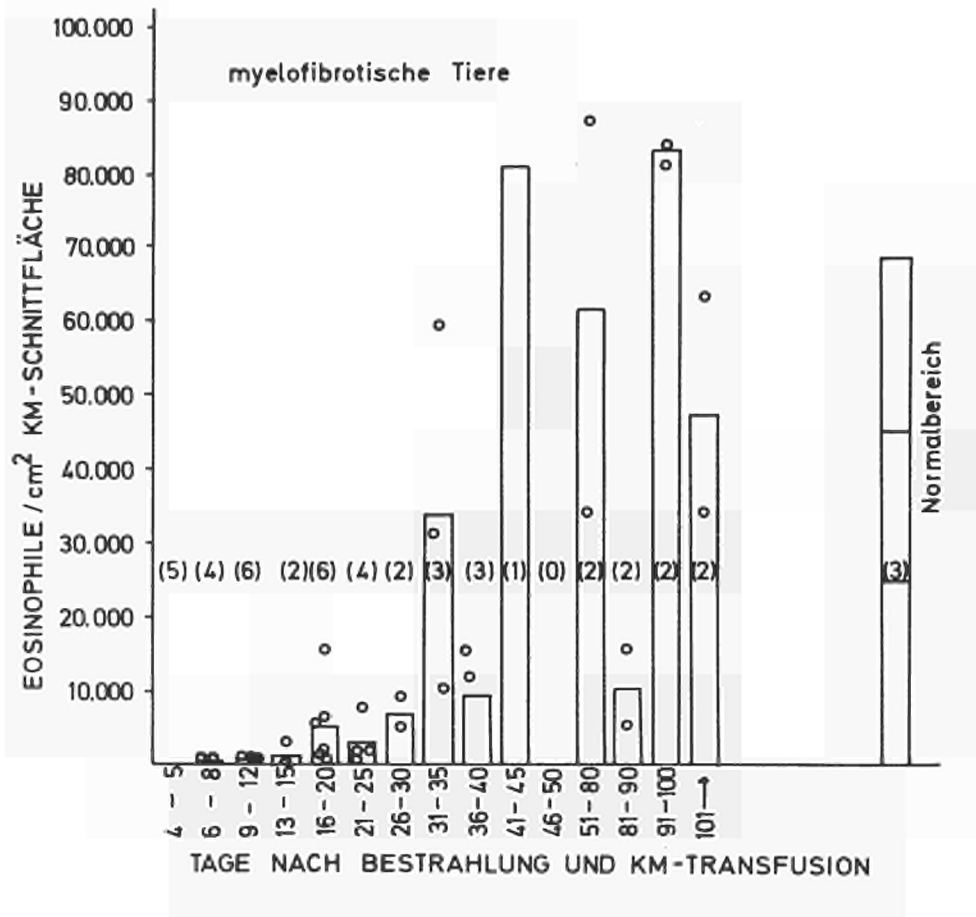


Abb. 23

Eosinophile Granulozyten im Knochenmark von Ratten mit Osteomyelofibrose.

Jedoch erreicht ein Teil der Tiere auch Werte, die sich im Normalbereich bewegen. Die getöteten Tiere zeigen einen spontanen Wiederanstieg zwischen dem 9.-12. Tag nach Bestrahlung auf etwa normale Werte (Abb. 18), die im weiteren Verlauf im subnormalen bis normalen Bereich pendeln. Lediglich in zwei Intervallen, die jeweils nur von einem Tier repräsentiert werden, sinken sie noch einmal auf niedrigere Werte. Die Megakaryozytenzahlen im Knochenmark myelofibrotischer Ratten (Abb. 20) erholen sich nur sehr langsam. Der höchste Wert, repräsentiert von einem einzelnen Tier mit Herdfibrose, findet sich zwischen dem 41. und 45. Tag und entspricht etwa dem niedrigsten Normalwert. Von diesem Einzelwert abgesehen, erreicht der höchste Mittelwert in der Spätphase weniger als die Hälfte des Normaldurchschnittes. Dieser Befund zeigt eine gegenüber den beiden anderen Kollektiven verminderte Regeneration für die gesamte Beobachtungsdauer.

4.2.1.9.2. Eosinophile:

Die Abb. 21, 22 und 23 befassen sich mit dem Verhalten der Eosinophilenzahl im Knochenmark der Ratten.

Bis zum 4.-5. Tag nach Bestrahlung haben die Eosinophilen ihr Minimum offenbar schon erreicht, denn alle Kollektive zeigen einen Zellanstieg, dessen Beginn allgemein spätestens am 6.-8. Tag anzusetzen ist, sich dann aber bei den einzelnen Gruppen unterschiedlich steil entwickelt.

Bei den gestorbenen Tieren steigen die Werte kontinuierlich bis zum 40. Tag, wo sie normal sind. Nach geringem Zurückgang steigen sie noch einmal in den oberen Bereich der Norm.

Die getöteten Tiere zeigen, wie bei den Megakaryozyten, einen steileren Anstieg als die anderen Kollektive, der bereits am 40. Tag den höchsten Wert der gestorbenen Tiere erreicht, dann aber sich fortsetzt, um jenseits des 80. Tages auf Werte, die mehr als das doppelte des Normalmittels betragen, zu steigen.

Die Fibrosetiere (Abb. 23) haben einen zunächst langsamen Anstieg der Eosinophilenzahlen, der aber am 35. Tag höher liegt als der der gestorbenen Tiere und zwischen dem 41. und 45. Tag nach Bestrahlung Werte erreicht, die nur wenig unter denen der getöteten Tiere liegen. Auch zwischen dem 91. und 100. Tag werden wieder solche Werte angetroffen.

Insgesamt entspricht der Anfangsverlauf der Eosinophilenzunahme bei den Fibrosetieren dem der gestorbenen Tiere, während sich ihr Spätverlauf mehr den Verhältnissen bei den getöteten Tieren nähert.

4.2.1.10. Knochenmarkhistologie bei Reproduktionsversuchen

Die Versuche C/12 - C/15 galten speziell dem Ziel, die Entwicklung einer Osteomyelofibrose im Frühstadium zu erfassen. Sie wurden zu einem Zeitpunkt angesetzt, wo eine Häufung von Myelofibrosefällen bei den Wistar-Ratten bereits erkennbar war. Um eine evtl. stammesspezifische Veränderung auszuschliessen, wurden die Untersuchungen an zwei verschiedenen Tierstämmen vorgenommen. C/12 misslang. Für die restlichen drei Experimente wurden insgesamt 100 Empfängertiere verwendet. Insgesamt ergab sich folgendes Bild:

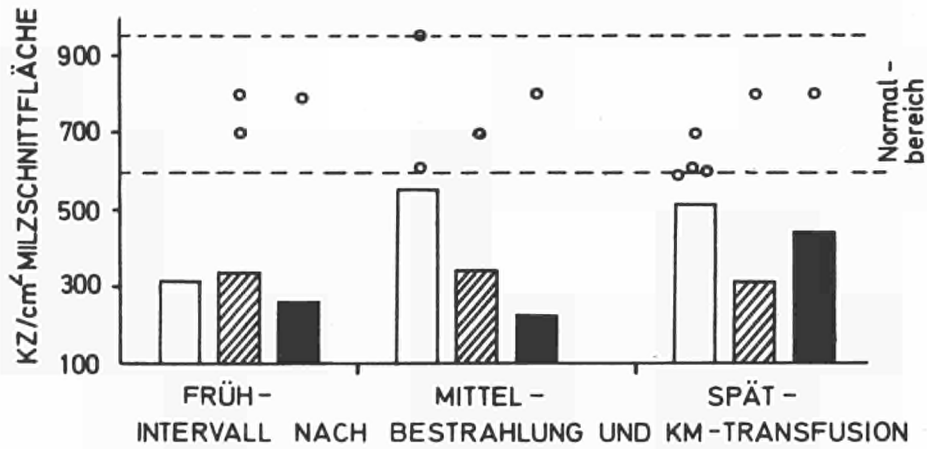
- C/13: Von 32 Empfängern (Sprague-Dawley) waren 3 Tiere (9,37 %) myelofibrotisch. Der Grad der Fibrose schwankte zwischen fraglicher Vorstufe bis zur sklerosierenden Fibrose.
- C/14: Von 30 Empfängern (Sprague-Dawley) zeigte ein Tier (= 3 %) eine herdförmige, wahrscheinlich der Zentralsinuswand zugehörige, Fibrose.
- C/15: Auch in diesem Experiment fand sich unter 30 Wistar-Ratten 1 Fibrose, und zwar in Form einer Zentralsinuswandfibrose.

Die angeführten Fälle wurden in die Kasuistik der myelofibrotischen Tiere einbezogen.

Der Prozentsatz der Ratten mit osteomyelofibrotischen Veränderungen im Rahmen der Reproduktionsversuche beläuft sich somit insgesamt auf 5 %.

Intervall	Kollektiv	Fibrose (Anteil am Kollektiv)	Kapselverdickung	Kapselfaltung	Myelopoese	Erythropoese	Megakaryo- poese
Früh	getötet	KEINE	██████████	██	██	██	KEINE
	gestorben	██████████	██████████	██████████	██████████	██████████	██
	fibrotisch	████	██████████	██████████	████	██	KEINE
Mittel	getötet	KEINE	██████████	██	██████████	██	██
	gestorben	██████████	██████████	██████████	██████████	██████████	██████████
	fibrotisch	████	██████████	██████████	██████████	██████████	██████████
Spät	getötet	KEINE	██████████	██	████	████	██
	gestorben	██████████	██████████	████	██████████	██████████	██████████
	fibrotisch	██████████	██████████	██████████	██████████	██	██████████

Tabelle 8: Schematischer Vergleich der wichtigsten Milzbefunde für die verschiedenen Tierkollektive und Zeitintervalle.



getötete Ratten
 gestorbene "
 myelofibrotische "

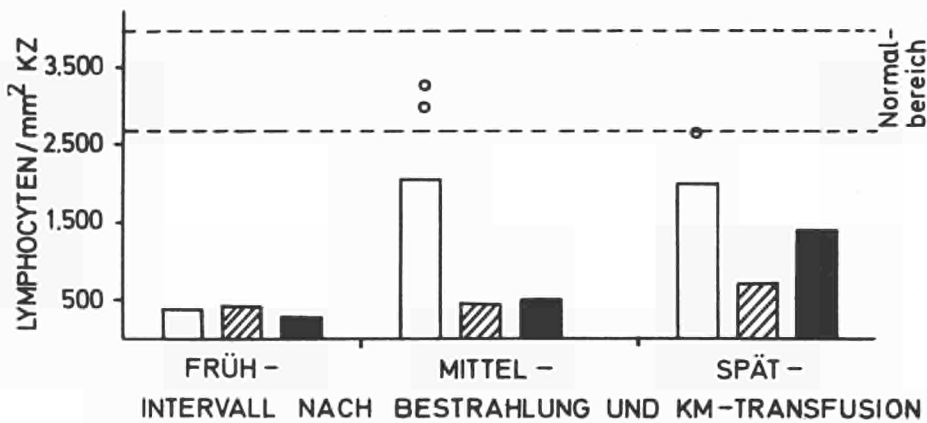


Abb. 25/26

Keimzentrenzahl/cm² Milzschnittfläche (Abb. 25) bzw. Lymphozytenkonzentration in den Keimzentren (Abb. 26) der Milzen bei getöteten, gestorbenen bzw. osteomyelofibrotischen Ratten. Die Säulen sind Mittelwerte, als o erscheinen jeweils die Einzelwerte, die im Normbereich liegen, gesondert.

Diese Untersuchungen ergeben, dass myelofibrotische Veränderungen unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht stammesspezifisch sind, wie auch der Fibrosefall von Balner (5) in einem wieder anderen Rattenstamm zeigt.

Der niedrige Prozentsatz von 5 % erlaubt es nicht, von einem reproduzierbaren Modell zur Erzeugung einer Myelofibrose zu sprechen. Es ist jedoch nicht auszuschliessen, dass bei Verwendung einer grösseren Tierzahl der Anteil myelofibrotischer Tiere höher ausfallen könnte.

4.2.2. Histologie der Milz

Die Milz ist ein Organ, das bei der menschlichen Myelofibrose und Myelosklerose praktisch immer Veränderungen aufweist und das durch seine Grössenzunahme und die Ausbildung extramedullärer Blutbildungsherde wesentlich zur Prägung des klinischen Bildes beiträgt.

Es soll hier untersucht werden, inwieweit die Milz in unseren Versuchen verändert ist und welche Unterschiede sich für die einzelnen Kollektive ergeben. Die wichtigsten Befunde sind in Tabelle 8 und Abb. 25 und 26 zusammengefasst.

4.2.2.1. Getöteter Ratten

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Bei keinem der fünf untersuchten Tiere findet sich Nekrosebildung; Hämorrhagien fehlen ebenfalls; in einem Fall (/212) wurde leichte ödematöse Infiltration beobachtet. Die Pigmenteinlagerung entspricht der Norm. Die Kapseln sind in 4 der 5 Fälle mässig verdickt, in nur 2 Fällen auch gefaltet. Der Kapselverdickung entspricht jeweils ein deutlicheres Hervortreten der Trabekel. Keimzentren und Gefässe sind hinsichtlich ihrer Bindegewebsstruktur praktisch nicht verändert. Insgesamt ist keine Veränderung im Sinne einer Fibrose festzustellen gewesen.

Das einzige Tier (/212), das hämopoetische Zellen aufweist, wurde am 6. Tag getötet und zeigt geringe Granulopoese und deutliche Erythropoese. Megakaryozyten fehlten. Es sei hier darauf hingewiesen, dass in diesem Kollektiv kein Tier jenseits des 6. Tages getötet wurde, so dass deutlichere Hämopoese zwischen dem 7. und 14. Tag nicht ausgeschlossen werden kann. Der Lymphozytengehalt im Frühintervall ist gering, jedoch finden sich in jedem Fall Lymphozyten, sei es in den Keimzentren oder disseminiert. Im Vergleich zur Norm ist die Zahl der Keimzentren pro cm^2 Milzschnittfläche auf etwa die Hälfte (320 statt 730), die durchschnittliche Zahl der Lymphozyten pro mm^2 Keimzentrum auf ein Zehntel (von 3510 auf 340) gesunken. Eosinophile und Plasmazellen finden sich praktisch nicht. Insgesamt bleibt das Grundgerüst der Milzstruktur trotz der hochgradigen Zellentleerung erkennbar.

2. mittleres Intervall (15.-40. Tag)

Der Zellgehalt der Milzen in diesem Zeitraum ist weitgehend wiederhergestellt. Die Keimzentren treten deutlich hervor. Ihre Zahl pro Flächeneinheit ist auf 550 im Mittel gestiegen, zwei Tiere haben mit 600, respektive 1000 Keimzentren pro cm^2 sogar Normwerte erreicht. Der Lymphozytengehalt pro mm^2 hat sich auf 2045 im Mittel erhöht; das entspricht subnormalen Werten.

Nekrosen, Ödem, Blutstauung traten nicht auf. Die Pigmenteinlagerung bewegt sich im unteren Bereich der Norm.

In zwei Fällen der 6 untersuchten Tiere trat eine mässige bis starke Kapselverdickung ohne gleichzeitige Faltung auf. In zwei anderen Tieren sind die Trabekel verdickt. Keimzentren und Gefäße sind im Hinblick auf ihr Stützgewebe normal. Die Granulopoese tritt in allen Tieren mässig bis stark auf. Megakaryopoese fehlt nur in einem Tier. In drei der 6 Tiere findet sich auch Erythropoese. Plasmazellen fehlen; Eosinophile werden mit Ausnahme eines Tieres vereinzelt bis deutlich beobachtet.

3. Spätintervall (ab 41. Tag)

Die Milzstruktur dieser Tiere erscheint durchweg normal. Aller-

dings ist die Besiedelung mit Lymphozyten in nur einem Fall im Bereich der Normalwerte gelegen. Die übrigen Tiere entsprechen mit durchschnittlich 2000 Lymphozyten pro mm^2 KZ-Fläche den Verhältnissen im mittleren Intervall. Die KZ-Zahl pro Flächeneinheit liegt mit 512 knapp unter der des vorausgehenden Zeitintervalls. Die Hälfte der 8 untersuchten Tiere weist allerdings eine Keimzentrenzahl im unteren Normbereich auf.

Nekrosen, Ödembildung oder gesteigerte Pigmenteinlagerung fehlen; in einem Fall wurde eine Blutstauung gefunden. Die Milzkapsel von 4 der 8 Tiere war gering bis deutlich verdickt, in zwei Fällen lag eine zusätzliche Kapselfaltung vor. Drei der vier Tiere wiesen ausserdem eine Zunahme des Trabekel- und Keimzentrenbindegewebes auf. Das Gefäßbindegewebe war in zwei Fällen geringgradig vermehrt. Eine allgemeine Fibrosierung konnte in keinem Fall beobachtet werden. Die Granulopoese ist gegenüber dem vorausgegangenen Intervall weniger ausgeprägt. Bei einem Tier fehlt sie völlig, bei zwei weiteren überschreitet sie nicht das auch bei Normaltieren auftretende Maß. Bei den restlichen 5 Tieren ist sie höchstens mässig entwickelt. - Megakaryozyten finden sich in jedem Tier, aber auch weniger deutlich als im mittleren Intervall. Lediglich die Erythropoese erscheint regelmässig und gegenüber dem vorausgehenden Intervall vermehrt. Plasmazellen fehlen; Eosinophile treten gering bis mässig auf.

4.2.2.2. Milz gestorbener Ratten

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Nur 2 der 21 Tiere dieses Kollektives zeigen hinsichtlich des Zellgehaltes noch eine erkennbare Milzstruktur mit Keimzentren und normalen Pulpaverhältnissen. Bei allen anderen steht die hochgradige Zellentblössung im Vordergrund. Die durchschnittliche KZ-Zahl pro Flächeneinheit beträgt mit 333 etwa die Hälfte der Norm; die Lymphozytenkonzentration in den KZ ist wie bei den getöteten Tieren auf 1/10 der Norm abgesunken und beträgt im Durchschnitt 390.

Die Reaktion der Milzkapsel auf Bestrahlung in Form einer Verdickung ist in den meisten Fällen deutlich bis ausgeprägt und meist mit einer Kapselfaltung verbunden, lediglich 2 Tiere erscheinen normal. In zwei Dritteln der Tiere findet sich eine zum Teil deutliche Vermehrung des trabekulären und Keimzentrenbindegewebes. Auch die Gefässwände sind in diesem Verhältnis verdickt. 8 Tiere weisen eine so deutliche Bindegewebiszunahme auf, dass man sie im Sinne einer Fibrosierung verstehen kann, jedoch wohl nicht als aktiven Vorgang, denn es fehlen Fibroblasten und Fibrocyten. Die 4 stärksten Formen liegen jeweils vor dem 6. Tag nach Bestrahlung und sind mit starker Kapselverdickung und -faltung kombiniert. Die gleichen Verhältnisse weisen drei Fibrosen auf, die am 7., 10. und 13. Tag gefunden wurden. Eine weitere Fibrose, die vom 14. Tag datiert, wies nur mässige Veränderungen an der Milzkapsel auf.

Nekrosen fanden sich in umschriebener Form bei 3 Ratten; 2 davon waren auch im Sinne einer Blutstauung verändert. Ödem fehlte regelmässig. In 6 Fällen war die Pigmenteinlagerung über die Norm erhöht; die Hälfte davon fand sich bei zugleich fibrotisch umgewandelten Milzen.

Granulopoese trat bei 7 von 11 bis zum 10. Tag nach Bestrahlung verstorbenen Tieren angedeutet auf, meist jedoch nur in Form einzelner Vorstufen. Jenseits des 10. Tages wurde sie deutlicher, erreichte bei 3 der 10 Tiere erheblichen Umfang und fehlte nur in einem Tier. Megakaryozyten fanden sich in 3 Fällen, aber in nur einem deutlich. Einzelne reife rote Vorstufen traten bei zwei Tieren, die am 4. Tag gestorben waren, auf. Der erste eigentliche Erythropoeseherd fand sich am 6. Tag nach Bestrahlung. Von diesem Zeitpunkt an fehlt die Erythropoese bei nur 4 von 15 Tieren. Vom 10. Tag an finden sich bei einigen Tieren vereinzelt Plasmazellen. Eosinophile fehlen praktisch oder übersteigen nicht die Norm. Von diesem Zeitpunkt an fallen auch gehäuft Mitosen ins Auge.

2. Mittleres Intervall (15.-40. Tag)

Ein Drittel der 20 vorliegenden Tiere weist einen mehr oder

minder deutlichen Lymphozytengehalt auf; der Rest ist immer noch hochgradig von Zellen entblösst, wie auch die Konzentration der Lymphozyten in den Keimzentren mit einem Wert von 420 ausweist. Die Zahl der Keimzentren pro Flächeneinheit liegt mit 342 genau wie im Frühintervall. Nur ein Tier erreicht mit 700 KZ/cm^2 Normalwert. Bei 3 Tieren tritt eine allgemeine Zellinfiltration auf, die aber die Keimzentren ausspart.

Die Milzkapsel von 4 der 20 Tiere erscheint unauffällig; der Rest ist mässig bis stark verdickt; bei 8 Tieren tritt zugleich eine Kapselfaltung als Zeichen einer Milzschrumpfung auf. Verdickung der Trabekel läuft den Kapselveränderungen etwa parallel. Weniger gleichsinnig verhält sich das Bindegewebe der KZ, das bei 8 Tieren zwischen dem 15. und 27. Tag vermehrt erscheint. Das Gefässbindegewebe ist nur in Einzelfällen betroffen. Insgesamt 6 Tiere weisen Bindegewebsveränderungen von einem Ausmass auf, das an Fibrose denken lässt. Vier dieser Tiere haben gleichzeitig eine gefaltete Milzkapsel. Das Bindegewebe der fibrosierten Milzen unterscheidet sich von den dickeren retikulären, gerade und in grösserem Abstand verlaufenden Fasern normaler Tiere durch seine zumeist feinere und gewellte Struktur, seinen Kollagengehalt und seine dichtere Schichtung. Nicht fibrosierte, jedoch bestrahlte Milzen nehmen in dieser Hinsicht eine Mittelstellung ein. Blutstauung und Ödem fehlen in jedem Präparat. Die Pigmenteinlagerung ist in 5 Fällen vermehrt; 3 dieser Fälle gehören zu Tieren mit fibrosierter Milz. Ein Tier weist nekrobiotische Bezirke auf.

Granulopoese fehlt bei dreien der Tiere, bei 7 ist sie angedeutet, bei 10 deutlich oder stark ausgeprägt. Megakaryozyten wurden in 9 Milzen beobachtet, jedoch nur in 2 Fällen gehäuft. Erythropoese weisen 13 Milzen auf. Plasmazellen traten in 6 Tieren auf, keines davon hatte eine fibrosierte Milz. Eosinophile sind in den meisten Fällen deutlich vorhanden.

3. Spätintervall (ab 41. Tag)

Auch in diesem Intervall zeigen erst 7 von 15 Tieren einen

mehr oder minder normalen Zellgehalt in der Milz. Die Zahl der KZ liegt mit 316 pro cm^2 in der Grössenordnung der vorangegangenen Intervalle. Die Repopulation der KZ ist fortgeschritten. Ihr Lymphozytengehalt ist auf $700 \text{ Lymphozyten /mm}^2$ angestiegen.

Die Kapselverdickung ist im Ganzen nicht mehr so ausgesprochen wie im Früh- und Mittelintervall, jedoch mit Ausnahme von 3 Tieren überall vorhanden. 7 Tiere zeigen gleichzeitige Kapselfaltung, jedoch nie sonderlich stark ausgeprägt. Die Trabekel sind bindegewebig nicht mehr verändert; die Keimzentren nur in 2 Fällen, der deutlichste davon zu einer allgemein bindegewebig induzierten Milz gehörend. Die Gefäßstruktur erscheint bei keinem Tier deutlich verändert. 5 Tiere haben eine mehr oder minder ausgeprägte Bindegewebszunahme, bei der die Diagnose "Fibrose" möglich wäre. Davon haben 3 eine gefaltete, alle 5 eine verdickte Milzkapsel. Die Pigmenteinlagerung ist unauffällig. Blutstauung und Ödem fehlen. Kleine Nekrosefelder finden sich in vier Tieren.

Die Granulopoese fehlt in 3 Tieren, bei 6 Tieren war sie angedeutet bis deutlich vorhanden; in den restlichen 6 stark oder sehr stark entwickelt. Megakaryozyten wurden in 7 Fällen beobachtet, aber in nur einem stark verbreitet. 12 der 15 Tiere weisen erythropoetische Herde auf. Plasmazellen finden sich in geringer Zahl bei der Mehrzahl der Fälle. Die Zahl der Eosinophilen gegenüber den vorangegangenen Intervallen hat deutlich zugenommen; sie fehlen in nur 4 Milzen.

4.2.2.3. Milzen myelofibrotischer Ratten

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Keines der 15 vorliegenden Tiere hat einen nennenswerten Zellgehalt in der Milz aufzuweisen. Bei zweien der Tiere ist dieser geringgradig zu nennen. Der Zellgehalt ist bis etwa zum 10. Tag sehr gering, nach diesem Zeitpunkt treten disseminiert mononukleäre Zellen mit meist runden, pyknotischen Zellkernen auf, deren Zuordnung zu einem Zelltyp der lymphatischen Reihe nicht

möglich ist. Der Lymphozytengehalt pro mm^2 KZ-Fläche beträgt 272; die Zahl der Keimzentren pro cm^2 Milzschnittfläche beläuft sich auf 261. Von einer Kapselverdickung sind ausser einem Tier alle betroffen, und zwar in zum Teil erheblichem Ausmaß. Eine Faltung der Kapsel findet sich bei 8 Tieren. Bei 2 Tieren ist eine hochgradige Zunahme des trabekulären und Keimzentrenbindegewebes zu beobachten; in einem dieser Fälle sind auch die Gefäßwände verdickt. Insgesamt treten drei stark entwickelte Fibrosen in diesem Intervall auf. Die deutlichste davon weist keine gefaltete Kapsel auf, eine zweite eine starke Fältelung der Kapsel, die dritte eine mässige. Die Pigmenteinlagerung ist in zwei Fällen stärker als normal, eine davon gehört zu einer fibrotischen Milz.

Nekrosen, sei es von umschriebenen Arealen, oder von einzelnen Zellen, treten in 3 Tieren auf. Blutstauung und Ödembildung fehlen. Lediglich in einem Tier fällt der Blutreichtum der Milz auf.

Granulopoese findet sich ab 9. Tag bei 4 von 6 Tieren in wechselndem Ausmass; Megakaryozyten fehlen regelmässig; die Erythropoese ist ebenfalls vom 9. Tag an in vier von sechs Fällen vorhanden. Plasmazellen fehlen, Eosinophile sind in geringer Zahl jenseits des 9. Tages zu beobachten.

2. Mittelintervall (15.-40. Tag)

Auch in diesem Intervall sind die meisten Milzen von Zellen nahezu völlig entblösst. Nur in 6 der 9 Tiere ist der Normalaufbau der Milz einigermaßen erkennbar, von diesen 6 wurden 2 getötet. Die Zahl der Keimzentren pro Flächeneinheit beträgt im Durchschnitt 230, nur ein Tier weist mit 800 KZ einen Normalwert auf. Die Lymphozytenkonzentration beträgt 470 pro mm^2 . Die Kapselverdickung ist bei 9 Ratten ausgeprägt und mit einer Kapsel-faltung verbunden. Bei 5 Tieren ist eine Verdickung angedeutet, bei weiteren 5 fehlt sie. Eine Beteiligung des Trabekelsystems an einer bindegewebigen Reaktion ist in drei Fällen gegeben, von denen zwei einer allgemein stark fibrosierten Milz zugeordnet sind. Das Stützgewebe der Keimzentren ist praktisch nur in einem

Tier vermehrt.

Es finden sich in diesem Intervall insgesamt 4 Milzen mit fibrosiertem Gewebe, die alle zugleich eine deutliche bis starke Kapselverdickung und -faltung aufweisen.

Ödem- und Hämorrhagiebildung fehlen durchweg; die Pigmenteinlagerung übersteigt in drei Fällen leicht das Maß bei Normaltieren.

Die Granulopoese ist in diesem Intervall recht ausgeprägt; sie fehlt in nur 2 Fällen, in 8 ist sie deutlich, in weiteren 5 stark verbreitet. Megakaryozyten finden sich jenseits des 18. Tages gehäuft, in Einzelfällen recht deutlich vermehrt. Die erythropoetische Reihe ist in diesem Intervall vor allem zwischen dem 15. und 22. Tag vertreten. Danach tritt sie nur noch angedeutet bei 2 von 8 Tieren auf. Plasmazellen fehlen, Eosinophile erscheinen fast regelmässig, aber nur selten vermehrt.

3. Spätintervall (ab. 41. Tag)

In diesem Intervall liegen 7 Milzen zur Untersuchung vor, 2 davon stammen von spontan gestorbenen Tieren, die anderen 5 von getöteten. Der Zellgehalt ist bei allen Tieren geringgradig ausgeprägt, am deutlichsten bei den getöteten, weniger klar bei den gestorbenen. Drei getötete Tiere haben mit 600 bzw. 800 KZ pro cm^2 Milzfläche normale Werte, der Durchschnitt liegt bei 443. Die Lymphozytenkonzentration ist auf $1360/\text{mm}^2$ KZ gestiegen. Kapsel- und -verdickung sind mit Ausnahme eines Tieres vorhanden, die deutlichste Ausprägung findet man bei 2 Milzen, die eine allgemeine Fibrosierung aufweisen; bei 2 weiteren Milzen mit vermehrtem Bindegewebe sind die Kapselveränderungen weniger deutlich. Die beiden einzigen Tiere mit verdickten Trabekeln sind die, die auch sonst eine starke Fibrose in der Milz aufweisen, eines davon hat auch Keimzentren mit verstärktem Bindegewebe. Im übrigen sind weder die Keimzentren noch die Gefässwände auffällig verändert. Ödem und Blutstauung fehlen, das einzige Tier mit einer deutlich vermehrten Pigmenteinlagerung hat gleichzeitig eine starke Milzfibrose. Granulopoese findet sich in

4 Milzen, in zweien davon stark verbreitet.

5 Tiere enthalten Megakaryozyten, drei davon, eins gestorben, zwei getötet, in exzessivem Ausmaß.

Die Erythropoese ist wenig stark entwickelt; in einem Tier findet sie sich deutlich, in zwei weiteren geringgradig. Plasmazellen fehlen. Eosinophile treten in drei Fällen massiv auf, in zwei anderen weniger stark.

4.2.2.4. Zusammenfassende Beschreibung der Milzbefunde

Es sei vorausgeschickt, dass Ödembildung, Blutstauung und Nekrose in jedem Intervall und bei jedem Tier so selten, und wenn, dann in so geringem Umfang vorkommen, daß sie in der Betrachtung der Befunde vernachlässigt werden können.

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Der Zellgehalt ist in diesem Intervall bei nahezu allen Tieren, mit Ausnahme einzelner Ratten in jedem Kollektiv, nahezu null. Eine hochgradige Zellentleerung bestimmt das Bild. Lediglich einige Tiere mit Knochenmarkfibrose weisen jenseits des 9. Tages Infiltrate von Zellen auf, deren Einordnung schwierig oder unmöglich ist, und die sich meist durch einen mehr oder weniger runden, dichten - und wohl pyknotischen - Kern auszeichnen. Die Zahlen der KZ/cm² Milzschnittfläche liegen im Kollektiv der getöteten, gestorbenen und osteomyelofibrotischen Ratten mit 320, 330 bzw. 261 sehr nahe beieinander. Ähnlich verhält es sich mit der durchschnittlichen Konzentration der Lymphozyten pro mm² KZ, die für die einzelnen Kollektive 343, 392 bzw. 272 beträgt. Die osteomyelofibrotischen Tiere haben also sowohl eine etwas geringere Dichte in der KZ-Verteilung als auch eine geringere Lymphozytenkonzentration in den Keimzentren.

Hinsichtlich der allgemeinen Bindegewebsvermehrung in der Milz dominieren die spontan verstorbenen Ratten, bei denen die solchermaßen veränderten Milzen einen Anteil von ca. 40 % umfassen,

Bei den osteomyelofibrotischen Tieren beläuft sich der Anteil auf 20 %, bei den getöteten fehlen solche Veränderungen. Dem Anteil an allgemein bindegewebig indurierten Milzen laufen die Veränderungen in den Milzkapseln grob parallel. Sowohl das Ausmaß der Kapselverdickung als auch das der Faltung der Kapsel ist bei den getöteten Tieren weniger ausgeprägt als bei den beiden anderen Kollektiven. Diese Parallelität tritt auch wieder im mittleren Intervall und noch deutlicher im Spätintervall auf.

Die Megakaryopoese ist im Frühintervall nur bei den gestorbenen Tieren vorhanden, aber nicht sehr ausgeprägt. Erythropoeseherde finden sich in geringem Ausmaß in allen drei Gruppen, am deutlichsten bei den gestorbenen Tieren. Die Granulopoese ist ebenfalls bei den gestorbenen Tieren am stärksten ausgeprägt; am schwächsten bei den getöteten; die osteomyelofibrotischen Tiere nehmen in diesem Intervall eine Mittelstellung ein. Plasmazellen treten vereinzelt nur bei den gestorbenen Tieren auf; Eosinophile können bei allen Kollektiven vernachlässigt werden.

2. Mittleres Intervall (15.-40. Tag)

Während die getöteten Tiere sich hinsichtlich ihres Zellgehaltes wieder völlig erholt haben, gilt dieses für die gestorbenen Tiere nur zum Teil. Die fibrotischen Ratten stehen in dieser Hinsicht an 3. Stelle. Die KZ-Zahl pro cm^2 beträgt bei den getöteten Ratten jetzt im Durchschnitt 550, bei einer Lymphozytenkonzentration von 2045. Die Werte für die gestorbenen Tiere belaufen sich auf 342/420 und für die osteomyelofibrotischen auf 230/470. Die Bindegewebsveränderungen entsprechen denen im Frühintervall, nur dass der Anteil der fibrosierten Milzen in der Gruppe der gestorbenen Ratten von 40 % auf 30 % gesunken ist.

Während die Granulopoese bei den getöteten Tieren am ausgeprägtesten ist und die beiden anderen Gruppen mit jeweils gleicher Ausdehnung folgen, ist die Erythropoese bei den beiden letztgenannten Kollektiven deutlicher entwickelt als bei den getöteten Ratten. Das Maximum an Megakaryozyten enthalten die gestorbenen Ratten, das Minimum die getöteten. Die osteomyelofibrotischen

liegen zwischen diesen Werten. Plasmazellen finden sich vereinzelt bei den gestorbenen Tieren. Die Eosinophilen sind am häufigsten bei den gestorbenen und getöteten, weniger bei den osteomyelofibrotischen zu finden.

3. Spätintervall (ab 41. Tag)

Die Milzen der osteomyelofibrotischen Ratten sind jetzt ebenfalls weitgehend normaler Struktur, während dieses nur für einen Teil der gestorbenen Tiere zutrifft. Diese Tatsache äußert sich auch etwa in der KZ-Konzentration und der mittleren Lymphozytenkonzentration in den Keimzentren. Die Werte sind im einzelnen:

Getötete Tiere 512/2008

Gestorbene Tiere 316/705

Osteomyelofibrotische Tiere 443/1360.

Diese und die Werte in den vorausgegangenen Intervallen sind in den Abb. 25 und 26 graphisch dargestellt.

Im Hinblick auf den Anteil fibrosierter Milzen ist gegenüber den früheren Intervallen eine Verschiebung zugunsten der osteomyelofibrotischen Gruppe eingetreten, in der die bindegewebig induzierten Milzen einen Anteil von 57 % stellen. Entsprechend ist es jetzt auch dieses Kollektiv, in dem die Veränderungen in der Milzkapsel am stärksten sind. An 2. Stelle folgen die gestorbenen Tiere mit 30 %. Die getöteten zeigen nach wie vor keine fibrotischen Milzen. Die Granulopoese ist bei den getöteten Tieren im Vergleich zum vorigen Intervall deutlich zurückgegangen, aber immer noch stärker als im Frühintervall. Bei den gestorbenen Tieren ist sie gegenüber den beiden früheren Intervallen etwas ausgedehnter. Die osteomyelofibrotischen Ratten entsprechen in ihrer Milzgranulopoese den Verhältnissen im mittleren Intervall. Die Erythropoese ist bei den getöteten Tieren gegenüber den vorausgegangenen Zeitabschnitten stärker geworden. Bei den gestorbenen Tieren ist sie über alle drei Intervalle gleich stark, während die osteomyelofibrotischen Tiere nach vorübergehender Zunahme im mittleren Intervall im Spätintervall wieder auf die Verhältnisse im Frühstadium zurückfallen.

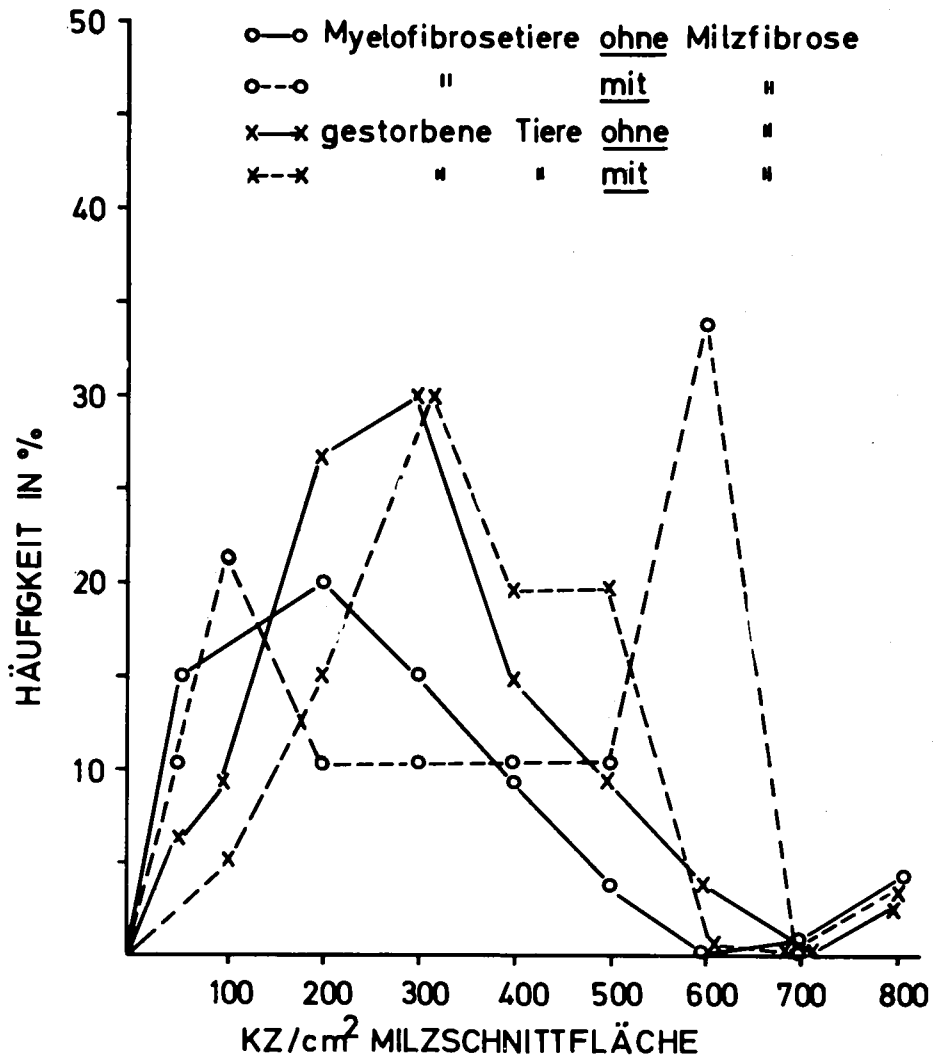


Abb. 24

Häufigkeit in %, mit der bestimmte Keimzentrendichten in fibrotischen bzw. nichtfibrosierten Milzen bei Osteomyelofibrosetieren einerseits und Tieren ohne KM-Fibrose andererseits auftreten. Nähere Erläuterung siehe Text.

In der Megakaryopoese überwiegt die Gruppe der osteomyelofibrotischen Tiere, danach kommen die gestorbenen Ratten und als drittes das Kollektiv der getöteten Ratten. Plasmazellen treten wiederum in nennenswerter Zahl nur bei den gestorbenen Ratten auf. Eosinophile sind deutlich vermehrt bei den osteomyelofibrotischen und gestorbenen Tieren, weniger deutlich bei den getöteten.

4.2.2.5. Interpretation der Milzbefunde

Hinsichtlich der Veränderungen im Stützgewebe des Milzparenchyms fällt auf, daß die allgemeine Zunahme des Bindegewebes stets mit einer Kapselverdickung und -faltung einhergeht. Daraus könnte man ableiten, dass es sich nicht um eine echte Bindegewebsvermehrung handelt, zumal man in den histologischen Schnitten keine Fibroblasten oder vermehrt Fibrozyten findet, sondern dass es sich um eine scheinbare Vermehrung infolge des Zusammenschrumpfens der von Zellen entblösten Milz handelt. Dafür spricht auch der Umstand, daß die Milzen der getöteten Tiere, deren Zellentleerung nicht so fortgeschritten ist, zwar eine mässig verdickte, aber kaum gefaltete Kapsel haben und nie fibrosiertes Gewebe aufweisen (siehe auch Tab. 8). Man sollte erwarten, dass mit dem Grad der Milzfibrosierung, vorausgesetzt, es handelt sich tatsächlich um einen reinen Schrumpfungsprozess, auch die Zahl der KZ pro cm^2 Milzschnittfläche zunimmt. Ein Vergleich der Häufigkeitsverteilung der einzelnen Durchschnittszahlen der KZ-Zahl in fibrosierten und nicht fibrosierten Milzen der Gruppe gestorbener einerseits und osteomyelofibrotischer Ratten andererseits ergibt tatsächlich eine geringe aber deutliche Rechtsverschiebung zugunsten der fibrosierten Milzen in beiden Kollektiven, d.h. also, dass diese Milzen einen höheren Prozentsatz an relativ hoher Keimzentrenkonzentration aufweisen (siehe Abb. 24).

Wenn man statt der Häufigkeitsverteilung, die über alle drei Intervalle hin durchgeführt wurde, die durchschnittliche KZ-Zahl pro cm^2 Milzschnittfläche für jedes Intervall getrennt errechnet, so ergibt sich sowohl für das Kollektiv der gestorbenen als auch für das der osteomyelofibrotischen Tiere grundsätzlich das gleiche

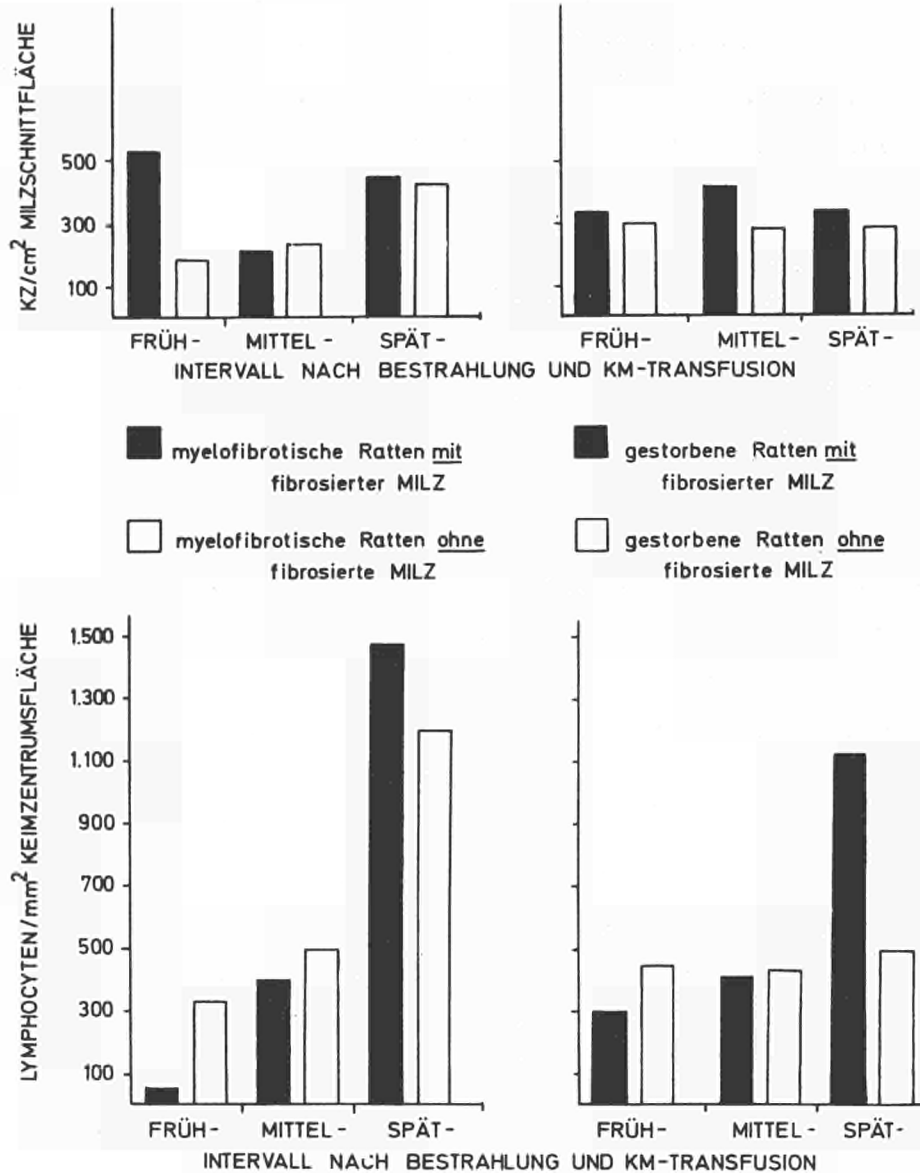


Abb. 27/28

In Abhängigkeit vom Zeitintervall nach Bestrahlung aufgetragene Keimzentrendichte (Abb. 27, oben) bzw. Lymphozytenkonzentration in den Keimzentren (Abb. 28, unten) fibrosierter bzw. nichtfibrosierter Milzen von myelofibrotischen Ratten einerseits und gestorbenen Tieren ohne KM-Fibrose andererseits.

Kollektiv	Histo-Nr.	Todes-tag	Milz-Fibrosegrad	Megakaryozyten	Myelo-poese	Erythro-poese
getötet			-			
gestorben	57	4	++++	-	(+)	-
	68	4	++++	-	-	-
	65	7	++++	-	-	-
	66	6	++++	-	((+))	-
	89	7	++	-	-	-
	79	10	+++	-	(+)	+
	106	15	++	-	++	+
	112	13	++	(+)	+++	(+)
	124	18	+++(+)	-	-	-
	62	22	+++(+)	-	(+)	+
	192	25	++++	-	+(+)	++
	123	29	+++	(+)	+++	(+)
	121	32	+++	-	-	-
	177	32	+++	-	+	++
	92	43	++(+)	+	+++	(+)
	93	43	++	-	+++	+
	122	41	+	+	+	(+)
	139	50	++	-	++	+
	101	74	++	+++	++++	++
osteomyelo-fibrotisch	566	4	++++	-	-	-
	567	4	++++	-	-	-
	315	10	+++	-	-	-
	273	15	++	-	++	+
	109	15	++	-	+++(+)	+
	344	35	++	(+)	+++	(+)
	94	73	++	-	-	-
	449	100	+++	-	-	-
	100	100	+(+)	++++	+++	+
	267	169	++++	(+)	(+)	(+)

Tabelle 9: Extramedulläre Blutbildung in der Milz
in Abhängigkeit vom Grad der "Milzfibrose".

Bild, nämlich, daß die fibrosierten Milzen eine höhere Keimzentrenkonzentration aufweisen. Eine Ausnahme bildet lediglich das mittlere Intervall der osteomyelofibrotischen Ratten, wo die nichtfibrosierten Milzen mehr Keimzentren aufweisen als die fibrosierten (siehe auch ABB. 27).

Vergleicht man die mittlere Lymphozytenkonzentration der Keimzentren, um sie als groben Anhalt für das Ausmass der Zellentblössung der Milzen heranzuziehen, so ergibt sich wiederum, daß die fibrosierten Milzen stärker von Zellen entblösst sind als die Vergleichsorgane. Hier bildet allerdings auch bei beiden Gruppen das Spätintervall eine Ausnahme, wo die Verhältnisse umgekehrt liegen (siehe auch Abb. 28). Die Erklärung für diese Umkehrung mag darin zu suchen sein, dass eine Repopulation in stark geschrumpften Milzen bei gleichen Zellzahlverhältnissen schneller zu einer höheren Konzentration führt als bei weniger geschrumpften. Die vorliegenden Ergebnisse lassen es als eindeutig erscheinen, dass die Milzfibrosierung in erster Linie ein Schrumpfungsprozess ist. Für eine eventuelle zusätzliche echte Bindegewebsvermehrung gibt es in der feineren kollagenöseren Struktur des Bindegewebes der fibrosierten Milzen höchstens einen morphologischen Anhalt.

Ein Vergleich der extramedullären Hämpoese in der Milz mit den bindegewebigen Veränderungen (siehe Tab. 9) ergibt für die Granulopoese und Erythropoese keine gesetzmässige Abhängigkeit. Bei der Megakaryopoese fällt auf, daß sie stets in dem Kollektiv am stärksten auftritt, wo auch der Anteil der fibrosierten Milzen am grössten ist (siehe Tab. 8). Stellt man jedoch in jedem Kollektiv und für jedes Intervall die einzelnen fibrosierten Milzen mit ihren jeweiligen Megakaryozytenzahlen gegenüber, so ergibt sich, daß diese Tiere eher eine "negative" Auswahl in dieser Hinsicht darstellen, d.h., dass es weitgehend die nicht fibrosierten Milzen sind, die in dem jeweiligen Kollektiv die hohen Zahlen an Megakaryozyten enthalten.



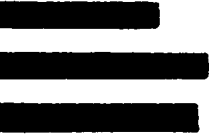


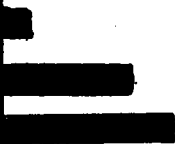






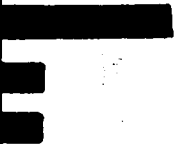
Intervall	Kollektiv	Nekrosen	Bindegewebs- vermehrung	Extramedulläre		Lymphozyten- entleerung	Keimzentren
				Erythropoese	Myelopoese		
Früh	getötet gestorben fibrotisch		} KEINE	} KEINE			} KEINE
Mittel	getötet gestorben fibrotisch		} KEINE				
Spät	getötet gestorben fibrotisch		} KEINE				

Tabelle 10: Vergleich der wichtigsten Lymphknotenbefunde für die einzelnen Tierkollektive in den verschiedenen Zeitintervallen nach Bestrahlung und Knochenmarktransfusion.

4.2.3. Lymphknoten-Histologie

Die Lymphknoten wurden untersucht, weil sie neben eventueller extramedullärer Blutbildung Hinweise auf den Ablauf eines "secondary disease" geben können, was für das Verständnis der Myelofibrose-entstehung in unserem Versuchsmodell von Bedeutung wäre.

Die wichtigsten Befunde sind in Tabelle 10 grobschematisch aufgeführt. Unter den Befunden sind zwei Punkte hervorzuheben:

Erstens das Überwiegen der Fibrosetiere hinsichtlich der Granulopoese im Mittel- und Spätintervall.

Zweitens der Umstand, daß im Spätintervall nur noch Fibrosetiere Hämopoesezellen und Erythroblasten aufweisen.

4.2.3.1. Getötete Ratten

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Die normale Struktur ist bei den im ersten Intervall untersuchten Tieren nicht erkennbar. Sekundärknötchen sind ausnahmslos verschwunden, die Rinde stark atrophisch, die Markstränge verbreitert. Nekrosen oder Bindegewebsvermehrung war nicht festzustellen, jedoch werden häufig Pigmentablagerungen, Stauungen mit Gefässerweiterung, Hämorrhagien sowie geringgradige ödematöse Durchtränkung beobachtet. In zwei Fällen lag geringe Fetteinlagerung vor. Extramedulläre Hämopoese hatte sich in keinem Präparat entwickelt mit Ausnahme eines granulopoetischen Herdes bei einem Tier am 14. Tag nach Bestrahlung. In den mehr oder weniger von Lymphozyten entblösten Organen fallen als dominierende Zellen solche mit dichtem, randständig-exzentrischem Kern und viel Cytoplasma, das leicht granuliert und eosinophil wirkt, auf, bei denen es sich wohl um Plasmazellen und Makrophagen handelt. Darüber hinaus treten in den Marksträngen hin und wieder Eosinophile auf, allerdings nur bei Tieren, bei denen die untersuchten Lymphknoten aus dem Intestinum stammen.

2. mittleres Intervall (15.-40. Tag)

Für dieses Intervall lagen nur 3 Tiere zur Auswertung vor. Sie zeigten weder Nekrosen noch Bindegewebsvermehrung; bei einem Tier (EF 0109/543) vom 25. Tag nach Bestrahlung ist die Entwicklung von Sekundärknötchen zu beobachten, während die anderen beiden keine typische Lymphknotenstruktur aufweisen. Ein Tier zeigte einen nicht verfetteten Lymphknoten, ein weiteres Pigmenteinlagerung und zahlreiche Mitosefiguren. Letzteres wies auch granulopoetische junge Zellen auf (EF 0109/434), während ein anderes (EF 0109/543) einige reife Normoblasten, intrasinusoidal gelegen, enthielt.

Der Lymphozytengehalt der Tiere ist bereits wieder nahezu normal.

3. Spätintervall (ab 40. Tag)

Von den 7 untersuchten Tieren wies nur 1 eine umschriebene Nekrosezone in einem Keimzentrum auf, während die anderen weder Nekrosezonen noch vermehrt Bindegewebe enthielten. Es trat weder Granulo- noch Erythropoese auf. Plasmazelluläre Elemente fanden sich nur vereinzelt, ebenso Eosinophile. Die Sekundärknötchen entsprachen in Zahl und Ausdehnung weitestgehend den normalen Vergleichspräparaten. Der Lymphozytengehalt ist subnormal bis normal.

4.2.3.2. Spontan gestorbene Ratten

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Fast 50 % der 20 untersuchten Tiere waren in verschiedenem Ausmaß nekrotisch, wobei das Bild von nekrotisch-pyknotischen Verhältnissen bis zur nahezu kompletten Nekrose (EF 0109/66 6. Tag nach Bestrahlung) reicht. Im wesentlichen waren diese Veränderungen in den Marksträngen lokalisiert. Das Bindegewebe war in keinem Fall vermehrt, Sekundärknötchen nie zu erkennen. Die lymphocytäre Entleerung erreichte noch höhere Ausmaße als in den Organen der getöteten Tiere. Pigmentgehalt und Hämorrhagie entsprachen etwa den Verhältnissen bei den getöteten Ratten. Dagegen erschien die Blutstauung und Gefäßerweiterung, vor allem

jenseits des 10. Tages nach Bestrahlung, gegenüber den getöteten Tieren ausgeprägt. Granulopoese trat gering bei 2 Tieren auf. Erythropoese in keinem. Der Gehalt an plasmazellulären Elementen und Makrophagen erschien ausgeprägter als bei den getöteten Tieren des gleichen Intervalls. Eosinophile traten kaum in Erscheinung.

2. Mittleres Intervall (15.-40. Tag)

In einem der 20 untersuchten Tiere waren im Randgebiet des Lymphknotens Matrixzellen der Markstränge zugrundegegangen; ansonsten fanden sich keine Nekrosen oder Bindegewebsreaktionen im Sinne einer Fibrosierung. Keimzentren waren in keinem Falle entwickelt; Hämorrhagien traten in zwei Fällen auf; der Lymphozytengehalt lag im Ganzen höher als im Frühintervall, aber niedriger als im Vergleichsintervall der getöteten Tiere. Erythropoese war nie vorhanden; Granulopoese fand sich in vier Fällen, z.T. recht ausgeprägt. Plasmazelluläre Elemente und Makrophagen sind noch reichlich vorhanden, aber nicht mehr wie im Frühintervall. Eosinophile treten nur in einzelnen Präparaten in nicht nennenswertem Umfang auf.

3. Spätintervall (ab 41. Tag)

Eines der 11 in diesem Intervall gestorbenen Tiere wies grosse Randfeld- und Markstrangnekrosen auf, ein anderes nekrotische Markstränge. In keinem Fall erschien das Bindegewebe vermehrt. Nahezu in allen untersuchten Lymphknoten waren auch in diesem Intervall die Keimzentren verschwunden, lediglich zwei Tiere machten eine Ausnahme: eines war in dieser Hinsicht nur schwach ausgeprägt, das andere entsprach etwa der Norm und war wegen seines moribunden Zustandes getötet worden. Der Gehalt an Plasmazellen, Makrophagen und Eosinophilen war in nur wenigen Fällen stark ausgeprägt. Der Lymphozytengehalt war in den meisten Präparaten stark vermindert, in einigen aber auch weniger stark; in jedem Fall jedoch war er geringer als der der Organe getöteter Ratten im entsprechenden Intervall. Es fand sich weder Erythropoese noch Granulopoese.

4.2.3.3. Ratten mit fibrotischem Knochenmark

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Von den 13 untersuchten Tieren wies etwa die Hälfte Zell- und Gewebsuntergänge verschiedenen Ausmasses auf; Bindegewebsvermehrung fiel in keinem Präparat auf; einige waren hämorrhagisch verändert, zwei erschienen ödematös durchtränkt; die typische Lymphknotenstruktur war in keinem Präparat mehr erkennbar, die Keimzentren verschwunden; der Lymphozytengehalt war bei etwa der Hälfte der Tiere nahezu null, bei dem Rest stark vermindert, bei einem Tier allerdings nur geringfügig unter die Norm abgesunken. Erythropoese fehlte in jedem Tier, Granulopoese fand sich in einem Tier (EF 0109/615) am 11. Tag nach Bestrahlung. Plasmazellen und Makrophagen waren mit Ausnahme eines Falles nur mässig häufig zu finden. Eosinophile wurden nicht gesehen.

2. Mittleres Intervall (15.-40. Tag)

7 der 20 Tiere, die zu diesem Intervall gehören, zeigten geringfügige Nekrosen, zumeist in den Marksträngen. Eine Bindegewebsvermehrung war nicht feststellbar. Die Ausbildung von Keimzentren wurde in einem Tier, das getötet worden war, gesehen. Während noch bis etwa zum 20. Tag nach Bestrahlung Hämorrhagien gefunden wurden, traten später vorzugsweise Gefässerweiterungen auf. Hin und wieder fällt verstärkte Pigmenteinlagerung auf. Der Gehalt an plasmazellulären Elementen und Makrophagen ist in etwa der Hälfte der Fälle, vor allem bei Tieren bis zum 20. Tag nach Bestrahlung, sehr ausgesprochen. 8 Tiere wiesen eine hochgradige Lymphozytenentleerung auf, 6 davon fielen in den Zeitraum vom 14. bis 22. Tag nach Bestrahlung. Den grössten, praktisch normalen Gehalt an Lymphozyten wies das getötete Tier auf, das auch eine im Ganzen unauffällige Struktur mit Ausbildung von Sekundärknötchen zeigte. Drei Tiere waren geringgradig von Eosinophilen durchsetzt. Erythropoese fehlte in allen untersuchten Fällen, während 50 % der Tiere granulopoetische Zellen in teilweise beträchtlicher Ausdehnung enthielten. 8 der Tiere mit Granulopoese fallen in den Zeitraum zwischen 20. und 40. Tag nach Bestrahlung.

3. Spätintervall (ab 41. Tag)

Von den 10 in diesem Zeitraum untersuchten Tieren waren 7 getötet, davon eines wegen seines moribunden Zustandes (EF 0109/94). Letzteres zeigte als einziges Tier in diesem Zeitintervall eine nahezu komplette Nekrobiose seiner submandibulären Lymphknoten. Bei einem anderen Tier, das gestorben war, waren lediglich einige Markstrangzellen untergegangen. Keines der Tiere zeigte Bindegewebsreaktionen im Sinne einer fibrotischen Umwandlung.

Sekundärknötchen waren bei zwei Tieren entwickelt, von denen eines getötet, das andere gestorben war. Der Lymphozytengehalt war bei der Hälfte der Tiere subnormal bis normal, bei 4 weiteren gering zu nennen und nur bei dem oben erwähnten moribund getöteten Tier gleich null. Es traten fast keine Plasmazellen oder Makrophagen mehr auf; dafür war die Eosinophilie in 4 Tieren ausgeprägt. Drei dieser vier Tiere waren getötet, zwei davon und ein drittes, gestorben, fielen in den Zeitraum jenseits des 100. Tages; Granulopoese war in drei Tieren angedeutet vorhanden; an erythropoetischen Vorstufen fanden sich in zwei Tieren vereinzelt pyknotische, reife Normoblasten, deren Identität jedoch nicht eindeutig war.

4.2.3.4. Besprechung der Lymphknotenbefunde

Während im Früh- und mittleren Intervall bei den getöteten Ratten keine Nekrosen zu finden sind, sind die Gewebsuntergänge bei den beiden anderen Kollektiven im Frühintervall deutlich, im mittleren Intervall vor allem in der Gruppe der gestorbenen Ratten, zurückgegangen, während die fibrotischen Tiere noch mehr Nekrosen zeigen. Im Spätintervall sind bei allen drei Gruppen geringgradige Nekrosen zu finden.

Bei keinem Kollektiv und zu keinem Zeitpunkt findet sich Bindegewebsvermehrung.

Die Lymphozytenentblössung ist naturgemäss im ersten Intervall nach Bestrahlung am stärksten, sie geht im mittleren Intervall

zurück, am vollständigsten bei den getöteten Tieren, am wenigsten bei den fibrotischen. Im Spätintervall sind die getöteten Tiere hinsichtlich ihrer Lymphknotenstruktur praktisch normal, die gestorbenen Tiere weisen noch eine mässige Atrophie auf, während die fibrotischen etwas besser regeneriert sind, wobei es jedoch nicht eindeutig so ist, dass die getöteten Tiere dieser Gruppe gut, die gestorbenen schlecht repopularisiert sind. Die Ausbildung von Keimzentren steht im grossen und ganzen in umgekehrtem Verhältnis zur Atrophie. Hochgradig atrophische Knoten zeigen keine Keimzentren, solche mit gutem Lymphozytengehalt weisen meist auch Sekundärknötchen auf.

Die Erythropoese ist in den Lymphknoten nach Bestrahlung und Übertragung von Knochenmarkzellen praktisch null. Lediglich bei den getöteten Tieren im mittleren Intervall und bei den fibrotischen im Spätintervall finden sich in einem bzw. zwei Tieren vereinzelt Zellen, die Normoblasten sein könnten.

Dagegen ist die Granulopoese ausgeprägt. Im Frühintervall ist sie in allen Gruppen angedeutet, nimmt im mittleren Intervall mit Ausnahme der getöteten Tiere zu, vor allem bei den fibrotischen Ratten, und ist im Spätintervall nur noch bei einigen Fibrosetieren zu finden.

Insgesamt lässt sich keine Veränderung feststellen, die im Sinne einer systematischen Fibrosierung zu interpretieren wäre. Auffällig ist nur das Überwiegen der Fibrosetiere im mittleren Intervall hinsichtlich Nekrosen, Granulopoese und Lymphozytenentblössung. Des weiteren der Umstand, dass im Spätintervall nur noch die Fibrosegruppe in einzelnen Fällen extramedulläre Hämopoese aufweist.

4.2.4. Leber-Histologie

Ähnlich wie die Lymphknoten ist auch die Leber u.a. ein wichtiger Indikator für den Ablauf eines secondary disease bei Ratten. Balner (5) bezeichnet Lebernekrosen sogar als den einzigen Befund, der bei Ratten mit secondary disease regelmässig gefunden werde.

Intervall	Kollektiv	Nekrosen	Bindegewebs- vermehrung	extramedull. Myelopoese	extramedull. Erythropoese
Früh	getötet gestorben fibrotisch		KEINE	KEINE	
Mittel	getötet gestorben fibrotisch		KEINE		
Spät	getötet gestorben fibrotisch		KEINE		

Tabelle 11: Schematischer Vergleich der wichtigsten Leber-
befunde für die einzelnen Tierkollektive in den
verschiedenen Zeitintervallen nach Bestrahlung
und Knochenmarktransfusion.

Aus diesem Grunde und zur Erfassung extramedullärer Blutbildungsstätten in der Leber wurde dieses Organ untersucht.

Die wichtigsten Befunde sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

4.2.4.1. Getötete Ratten

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Von den vorliegenden Tieren (4 vom 6. Tag, 1 vom 8. Tag nach Bestrahlung) zeigen drei geringe bis mässige Sinusstauung. Die Zentralvenen sind erweitert und z. T. plasmagefüllt. Das auffälligste an den Ratten dieses Intervalls und den getöteten Tieren der beiden folgenden Intervalle ist die Veränderung des Cytoplasmas der Leberparenchymzellen. 13 von 21 Tieren zeigen diese Veränderungen. In leichten Fällen handelt es sich um vakuolige Einlagerungen, die in ausgeprägten Fällen so weit fortgeschritten sind, dass das Cytoplasma körnig-krümelig ausgefallen erscheint.

Nekrosen, Bindegewebsvermehrung oder extramedulläre Blutbildung finden sich nicht. Lediglich ein Tier (EF 0109/636) weist eine beginnende Nekrotisierung des Gewebes um die Zentralvenen auf.

2. Mittleres Intervall (15.-40. Tag)

Für dieses Intervall lagen 4 Tiere vor. Von diesen zeigten 2 nekrobiotische Veränderungen in der Peripherie der Leberläppchen, eines davon wies zusätzlich periphere beginnende Verfettung auf. Bindegewebsvermehrung konnte nicht festgestellt werden. Ein Tier enthielt einen kleineren interlobulär gelegenen Granulopoeseherd (EF 0109/546). Ein weiteres zeigte einen periarteriell gelegenen Granulopoeseherd in einem Glisson'schen Zwickel, Herde mit roten Blutzellvorstufen traten nicht auf.

3. Spätintervall (ab 41. Tag)

Nekrosen traten in diesem Intervall bei den 12 untersuchten Tieren nicht auf. Ebenso wenig eine Bindegewebsvermehrung.

Neben den bereits für das erste Intervall beschriebenen **Cytoplasmaveränderungen** waren weitere Befunde:

Bei drei Tieren einzelne kleine Infiltrate lymphoider Zellen in den Glisson'schen Räumen (EF 0109/82, /41, /43). In einigen Leberpräparaten sind die Sinus gestaut. Ein Tier (EF 0095/7) zeigt einen kleinen intralobulär gelegenen Herd von Zellen, bei denen es sich um Erythroblasten handeln könnte. Fünf Tiere weisen granulopoetische Herde auf, die in 2 Fällen (EF 0109/82, /98) intralobulär, in drei Fällen (EF 0109/41, /43, /392) interlobulär gelegen sind. Das ausgeprägteste Präparat zeigt 4 kleine interlobuläre Herde auf der Schnittfläche. Das älteste Tier mit Granulopoese wurde am 154. Tag nach Bestrahlung und Transfusion getötet.

4.2.4.2. Spontan gestorbene Ratten

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Die drei untersuchten Tiere zeigen weder Nekrosen noch Bindegewebsvermehrung oder extramedulläre Blutbildung. Die Leberparenchymzellen zeichnen sich in diesem sowie in den späteren Intervallen durch ihr homogen wirkendes Cytoplasma aus. Nur in einigen Fällen erscheinen sie etwas aufgequollen. Lediglich ein Tier (EF 0109/65) weist eine feintropfige zentrale Verfettung auf.

2. Mittleres Intervall (15.-40. Tag).

In diesem Intervall wurden 11 Tiere untersucht. Davon zeigt eines fleckförmige Nekrosen (EF 0109/293), ein weiteres Veränderungen im Sinne einer Nekrobiose (EF 0109/128) und ein drittes ausgedehnte, hyalin wirkende Nekrosegebiete (EF 0109/155). Keines der Tiere weist eine Vermehrung des Stützgewebes auf. Erythropoeseherde sind nicht zu finden. Zwei Tiere (EF 0109/518, /511) zeigen je zwei kleine perivaskulär liegende Granulopoeseherde. Bei 6 Tieren ist es zu deutlicher Pigmenteinlagerung, Ödembildung und Hyalinisierung der Gefäßwände gekommen.

3. Spätintervall (ab 41. Tag)

Von den 13 Tieren wiesen 9 verschiedengradige Gewebnekrosen

auf. Bei dreien davon handelte es sich um Untergänge im Randgebiet der Schnittfläche. Vier weitere waren lediglich in Form kleiner fleckförmiger Nekrosen verändert. Nur 2 Präparate (EF 0109/508, /97) waren von zahlreichen Nekroseherden mit Pigmenteinlagerungen und Kerntrümmern durchsetzt.

Es wurden keine Granulopoeseherde gesehen. In einem Tier (EF 0109/508) fand sich ein kleiner Herd, dessen Zellen wohl rote Vorstufen darstellen.

Neben geringer Sinusstauung in vier Tieren fielen in 5 Tieren meist interlobulär-perivaskulär gelegene Infiltrate lymphoider Zellen ins Auge. Bei einem der Tiere (EF 0109/122) kam noch das vereinzelte Auftreten von Plasmazellen hinzu.

In einem Tier war die Leber von grossen Höhlen durchsetzt (EF 0109/464), die zum Teil Endothel aufwiesen, zum Teil aber auch nur unscharf vom umgebenden Parenchym abgesetzt waren. Bakterien wurden nicht gesehen.

4.2.4.3. Lebern von Ratten mit KM-Fibrose

1. Frühintervall (1.-14. Tag)

Bei den 15 zu diesem Intervall gehörenden Tieren fehlen die Leberpräparate von 6 Tieren. Von den restlichen 9 Tieren zeigt eines (EF 0109/322) ein abszessartiges Nekrosefeld, ein zweites (EF 0109/315) randständige und zentrale Nekrosefelder. Bei keinem der Tiere wurde eine Zunahme des Bindegewebes festgestellt. Ebenso wenig fanden sich Granulopoeseherde im Leberparenchym. Ein Tier (EF 0109/615) wies einen kleinen Herd von 5 erythropoetischen Zellen auf. Dieses Tier zeigte neben geringer Sinuserweiterung auch etliche Zellen, deren Zugehörigkeit unklar war und die sich in Mitose befanden.

2. Mittleres Intervall (15.-40. Tag)

Hier fehlten bei 12 von insgesamt 22 Tieren die Leberpräparate. Nur in einem Fall der restlichen 10 Tiere fand sich ein kleiner

Nekroseherd. Das Bindegewebe war auch in diesem Fall nicht vermehrt. Zwei Tiere (EF 0109/545, /337) wiesen einen kleinen Herd wahrscheinlich myeloischer Zellen auf. Das letzte Tier enthielt weiterhin zwei kleine Herde, bei denen es sich um Erythroblasten, evtl. auch um lymphatische Zellen handelt. In diesem Fall tauchten ausserdem vereinzelt intrasinusoidal gelegene Plasmazellen auf. Die Leberläppchen dieses Präparates waren peripher verfettet. Sofern es sich bei dem vorliegenden Material um getötete Tiere handelte, zeigten auch diese wieder die cytoplasmatischen Veränderungen wie sie für das Kollektiv der getöteten, fibrosefreien Tiere beschrieben wurden.

3. Spätintervall (ab 41. Tag)

Es liegen die Lebern von neun Tieren vor. Die Präparate der restlichen beiden Tiere fehlen. Bei einem Tier fand sich ein kleiner Nekroseherd, darüber hinaus wies das Parenchym große Höhlen auf, die z.T. endothelisiert waren und bei denen es sich entweder um stark erweiterte Gefässe oder um abgekapselte Abszesse handelt.

Bei zwei weiteren, die getötet wurden, war die Läppchenstruktur nur noch verschwommen erhalten. Auch in diesem Intervall konnte keine Stützgewebszunahme festgestellt werden. Lediglich in einem Präparat (EF 0109/266) erschienen die Glisson'schen Räume etwas deutlicher als gewöhnlich.

Das Leberparenchym eines Tieres war grobtropfig verfettet.

Ein Tier zeigte neben mässiger Eosinophilie und Verfettung drei intralobulär gelegene Erythroblastenherde, sowie zahlreiche granulopoetische Herde, die zumeist paravasal in der Umgebung der Zentralvenen lagen.

4.2.4.4. Zusammenfassende Besprechung der Leberbefunde.

Zunächst fällt beim Vergleich der drei Kollektive (getötete, gestorbene und fibrotische Ratten) das unterschiedliche Aussehen des Cytoplasmas der Parenchymzellen auf. Fast alle getöteten Tiere

weisen vakuolige bis körnig-granuläre Veränderungen im Zellplasma auf. Sofern solche Erscheinungen sich bei fibrotischen Tieren finden, handelt es sich ebenfalls um getötete Tiere. Nur ein gestorbenes Tier (EF 0109/512), das im mittleren Intervall starb, ähnelte hinsichtlich des Aussehens des Leberzellplasmas dem obigen Befund. Der Gedanke liegt nahe, die beschriebenen Veränderungen als Folgen der toxischen Wirkung des zur Tötung fast ausschliesslich verwendeten Äthers aufzufassen. Es wäre weiter denkbar, dass der grössere H₂O-gehalt der Zellen getöteter Tiere unter gemeinsamem Einfluss von Äther und dem zur Gewebefixierung benutzten Formalin zur beschriebenen "Ausfällung" des Cytoplasmas führte, während bei den exsiccierten, gestorbenen Tieren solche Erscheinungen nicht möglich waren.

Die Häufigkeit von Nekrosen im Früh- und im mittleren Intervall ist für alle Kollektive etwa gleich.

Im Spätintervall dominieren eindeutig die gestorbenen Ratten. Die getöteten Tiere weisen keine Nekrosen mehr auf, die fibrotischen nehmen eine Mittelstellung ein, was sich zum Teil durch die gemischte Zusammensetzung aus getöteten und spontan gestorbenen Tieren erklärt. Ob die Lebernekrosen, namentlich der gestorbenen Ratten, spezifische Reaktionen im Sinne eines "secondary disease" darstellen oder beiläufige Veränderungen im Zuge einer anderen Todesursache sind, muss im Rahmen dieser Untersuchungen dahingestellt bleiben. Bei den randständigen Nekrosen liegen mit grösster Wahrscheinlichkeit postmortale Veränderungen vor.

Bindegewebsvermehrung, sei es im Sinne einer Fibrose oder in Form einer Cirrhose, konnte in keinem Kollektiv bei keinem Tier festgestellt werden.

Extramedulläre Hämopoese trat im Frühintervall weder bei den getöteten Tieren noch bei den gestorbenen auf. In der Gruppe der Fibrosetierte fand sich ein Fall (EF 0109/615) mit einem kleinen intrasinusoidalen Erythroblastenherd.

Im mittleren Intervall treten bei den getöteten Tieren vermehrt granulopoetische Herde auf, ebenso bei den gestorbenen und fibrotischen, aber nicht so ausgesprochen. Erythropoese findet sich nur bei einem fibrotischen Tier (EF 0109/337). Die Granulopoese ist im Spätintervall bei den getöteten Tieren am stärksten ausgeprägt, bei den gestorbenen fehlt sie, bei den Fibrosetieren liegt 1 Fall (EF 0109/356) vor, In jedem Kollektiv weist 1 Tier Erythropoese auf. Dabei zeigt das Fibrosetier die deutlichsten Infiltrate.

Insgesamt zeigt die Leber der untersuchten Tiere keine eindeutigen Zeichen fibrotischer Umwandlung. Die Erythropoese scheint bei der Gruppe mit fibrotischem KM gegenüber der extramedullären Granulopoese in den Vordergrund zu rücken, während das Verhältnis bei den getöteten Tieren umgekehrt ist. Die Gruppe gestorbener Ratten nimmt in dieser Hinsicht eine Mittelstellung ein. Hier sind sowohl Granulopoese als auch Erythropoese Ausnahme. Der deutlichste Fall von extramedullärer Erythropoese gehört zu einer Ratte mit beginnender KM-Sklerose.

Es fällt auf, dass im Spätintervall die gestorbenen Tiere deutlich mehr Nekrosen aufweisen als die Fibrosetiere. Ein möglicher Hinweis auf das "secondary disease", zu dessen häufigsten Befunden die Lebernekrose zählt, als Todesursache.

Weiterhin fällt auf, dass es wiederum die Erythropoese ist, die bei den Fibrosetieren eindeutig überwiegt. Die Granulopoese wird dagegen bei den getöteten Tieren am häufigsten gefunden.

5. Diskussion

Die Diskussion soll sich auf der Basis unserer experimentellen Befunde im wesentlichen mit der Erörterung ätiologischer und pathogenetischer Möglichkeiten für die Entstehung einer Myelofibrose bzw. -sklerose befassen.

Auf Einzelbefunde soll nur eingegangen werden, sofern sie für die angestellten Betrachtungen von Bedeutung sind. Im Einzelnen sind sie in den entsprechenden vorausgegangenen Kapiteln nachzulesen.

Auch die gesetzmässigen Reaktions- und Regenerationsverläufe, wie sie nach Bestrahlung und Knochenmarkzelltransfusion abzulaufen pflegen, sollen an dieser Stelle nicht weiter ausgeführt werden. Sie entsprechen in unserem nichtmyelofibrotischen Tiermaterial prinzipiell den Angaben in der Literatur. Hinsichtlich Einzelheiten sei auf die Monographie von Bond, Fliedner, Archambeau (18) hingewiesen. Das Problem der Ausbildung eines "secondary-disease" wird im Laufe der Diskussion im jeweiligen Zusammenhang angeschnitten werden.

5.1. Diskussion von Befunden

Die vorliegende Analyse klinischer, pathologisch-anatomischer sowie histologischer Befunde von osteomyelofibrotischen bzw. myelofibrosefreien Ratten ergab Resultate, die keine so deutlichen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen aufwiesen, wie die vielfach ausgeprägten Knochenmarkfibrosen erwarten liessen. Allerdings ist von klinischen Beobachtungen her bekannt, dass zwischen dem Grad der Knochenmarksveränderung und anderen Symptomen keine strenge Abhängigkeit besteht (1,83).

Die deutlichsten Unterschiede gegenüber den nichtosteomyelofibrotischen Tieren bestehen im höheren Anteil unreifer weißer und roter Vorstufen im peripheren Blut der Fibrosetiere, deren Verlauf eine deutliche Parallelität mit der Verteilung der Knochenmark-

fibrosen auf eine Gruppe in den ersten 40 Tagen nach Bestrahlung und eine zweite jenseits des 70. Tages aufweist.

Für die ersten 3 Wochen nach Bestrahlung könnte man Befunden Stodtmeisters und Fliedners (82) entsprechend das Auftreten von unreifen Blutvorstufen in der Peripherie auf eine die extramedulläre Blutbildung in der Milz stimulierende Anämie zurückführen. Dem müsste aber entgegengehalten werden, dass es in diesem Zeitraum durchaus nicht die fibrotischen Tiere sind, deren extramedulläre Blutbildung in der Milz am stärksten ausgeprägt ist. Diese ist im Gegenteil zu allen Zeitpunkten sowohl granulopoetisch als auch erythropoetisch bei den gestorbenen Tieren ohne Myelofibrose stärker oder gleich stark entwickelt. Die getöteten Tiere allerdings sind lediglich hinsichtlich der Erythropoese im Spätintervall den Fibrosetieren überlegen, so dass sich für diese hinsichtlich der Milzhämopoese eine gewisse Mittelstellung zwischen getöteten und gestorbenen Tieren ergibt.

Betrachtet man jedoch nicht ausschliesslich die Hämopoese in der Milz, sondern zusätzlich auch die in der Leber und in den Lymphknoten, so ergeben sich neue Gesichtspunkte. Es stellt sich nämlich heraus, dass für die gesamte extramedulläre Blutbildung, soweit sie von uns untersucht wurde, ein leichtes Überwiegen der gestorbenen Tiere im Frühintervall, ein Überwiegen der getöteten über die fibrotischen im Mittelintervall und ein solches der Fibrosetiere über die Getöteten und Gestorbenen im Spätintervall vorliegt. Diese Befunde im Früh- und Mittelintervall könnte man in prinzipieller Übereinstimmung mit den Ansichten Stodtmeisters und Fliedners (82) so erklären:

Nach Letalbestrahlung und Knochenmarkzelltransfusion kommt es zur Zellansiedlung im Knochenmark, in Leber, in Milz und anderen Organen bei allen Tieren, so dass im histologischen Schnitt solcher Organe unreife Blutzellen gefunden werden. Das Überwiegen der gestorbenen Tiere im Frühintervall darf in diesem Zusammenhang nicht überbewertet werden. Während bei den gestorbenen Tieren ein Nichtangehen oder nur vorübergehendes Proliferieren der trans-

fundierten Zellen, die ausbleibende Zunahme von extramedullärer Hämo-
poese erklären würde, kommt es bei den getöteten Tieren, bei denen das
Transplantat angegangen ist, zur vermehrten Ausprägung extramedullärer
Blutbildungsherde mit dem Erfolg, dass diese Gruppe zwischen dem 14.
und 40. Tag nach der Bestrahlung in Bezug auf die extramedulläre Hä-
mopoese überwiegt. Die Fibrosetiere stehen zwischen beiden Kollektiven.
Mit der Normalisierung der Regenerationsverhältnisse im Knochenmark
und dem Wiederanstieg der Erythrozyten in der Peripherie sowie der
Erholung der lymphatischen Organe kommt es dann, nach Stodtmeister
und Fliedner (82), zu einem Rückgang der extramedullären Blutbil-
dung, sogar zur Verdrängung dieser Herde durch organspezifische
Zellen. Diese Vorgänge würden im Prinzip als kompensatorischer
Mechanismus zu verstehen sein.

Im Spätintervall fallen die oben beschriebenen Faktoren als Regula-
tionsmechanismen fort. Die extramedulläre Blutbildung bei den getö-
teten Tieren ist nur mehr wenig ausgeprägt, wenn auch noch mehr
als bei den gestorbenen. Jetzt sind es die Fibrosetiere, die, an-
scheinend anderen Einflüssen zufolge, den ersten Platz in der extra-
medullären Blutbildung einnehmen.

Bei den Myelofibrosetieren liegt nicht nur der Anteil unreifer Vor-
stufen im Blut höher als bei den anderen Tieren, es findet sich
darüber hinaus auch eine gewisse Zunahme der unreifen Vorstufen
in Abhängigkeit vom Grad der Fibrose. Dies könnte man auf eine gleich-
zeitig mit der zunehmenden Fibrosierung wachsende extramedulläre
Metaplasie zurückführen. Vergleiche in dieser Richtung bei einzel-
nen Tieren haben diese Annahme jedoch nicht bestätigen können. Auch
diese Widersprüchlichkeiten finden ihre Parallelen in der Klinik
(83, 1).

Die Diskrepanz zwischen dem Auftreten von Blutvorstufen im Blut
und dem Ausmass von extramedullärer Metaplasie könnte man sich viel-
leicht damit erklären, dass diese Vorstufen nicht, oder nicht nur,
aus extramedullären Herden stammen, sondern durch eine Störung des
Ausschwemmungsmechanismus in fibrosiertem Knochenmark in die Peri-
pherie gelangen.

Ein anderes Merkmal der Fibrosetiere ist die sowohl prozentual als auch absolut niedrigere Eosinophilenzahl im Blut gegenüber den Vergleichstieren. Immerhin übersteigt sie zu späteren Zeitpunkten erheblich die Normalwerte unbehandelter Tiere, so dass man von einer Eosinopenie nicht sprechen kann. Hinsichtlich des Eosinophilengehaltes im Knochenmark nehmen die Fibrosetiere, wie schon erwähnt, eine Mittelstellung zwischen getöteten und gestorbenen Ratten ein.

Neben der extramedullären Blutbildung in verschiedenen Organen und dem Auftreten unreifer Blutzellvorläufer in der Peripherie sind weitere Gemeinsamkeiten zwischen der Osteomyelofibrose im vorliegenden Tiermodell und dem entsprechenden Symptomenkomplex beim Menschen das Ausbleiben einer Lymphknotenvergrößerung, Milzhämosiderose sowie eine, allerdings nur geringgradige und auch bei den nichtfibrotischen Tieren auftretende Thrombopenie und Granulozytopenie bei den Ratten, die zu späteren Zeitpunkten nach Bestrahlung untersucht wurden.

Der wichtigste mit der Klinik übereinstimmende Befund besteht in der Histopathogenese der Osteomyelofibrose in unseren Ratten und im Menschen. Auf sie soll anschliessend eingegangen werden. Symptome, die beim Menschen auftreten, bei unseren Ratten aber fehlen, sind Anämien oder perniciosiforme Reaktionen zum einen und der Milztumor mit Bindegewebiszunahme zum anderen. Ebenso wenig fand sich in unseren Tieren eine Vermehrung der Megakaryozyten im Knochenmark. Die Bindegewebsvermehrung in unseren meist normal grossen oder aber verkleinerten Rattenmilzen konnte als Pseudovermehrung infolge einer durch die starke Zellentleerung bedingten Milzschrumpfung erkannt werden.

5.2. Histopathogenese der Osteomyelofibrose

Aus den verschiedenen morphologischen Entwicklungsstufen der Fibrose im Knochenmark der betroffenen Ratten lässt sich eine Histopathogenese ableiten, die in ihren Grundzügen der beim Menschen weitestgehend entspricht.

Ausgangspunkt der osteomyelofibrotischen Veränderungen ist eine Störung der Architektur des Knochenmarkes, sei es durch Stauungen oder durch Zerstörungen im Sinusgefäßsystem. Diese Ansicht teilen auch andere Autoren (83, 76, 65, 19, 74, 42). Folge dieser Läsionen sind Exsudate, die meist eiweißreich und gut anfärbbar sind im Parenchym, oft von Hämorrhagie begleitet, und Gewebsuntergänge, die an anderen Stellen im Mark zur kompensatorischen Hyperplasie führen können (1, 40, 65 u.a.). Die Hyperplasien sind in unserem Tiermaterial nicht so häufig festzustellen gewesen, wohl weil durch die letale Ganzkörperbestrahlung das Substrat für solche Reaktionen fehlte. Bei Ausbreitung des Ödems, das focal, disseminiert oder diffus entstehen kann, wird dem hämopoetischen Parenchym mehr und mehr die Lebensbasis entzogen.

In dieser hypoxämischen Umgebung und in Anwesenheit nekrotischen Zellmaterials kommt es zur Wucherung von retikulären Zellen, die in diesem Milieu als einzige existieren können. Ihre Vermehrung ist möglicherweise eine Reaktion auf die Markentleerung, die Häufung nekrotischen Materials, sowie in unserem Fall die Anwesenheit von Fremdmaterial (92). Geht man davon aus, dass sich innerhalb der Gruppe von Zellen, die morphologisch als retikuläre Zellen zusammengefasst sind, solche befinden, die bei adäquatem Reiz, hier die hochgradige Zellentleerung des Marks, Stammzellfunktion haben können (75, 41), so könnte diese Vermehrung auch Ausdruck eines Regenerationsversuches sein, der jedoch aufgrund der mangelhaften Lebensbedingungen nicht zur Ausbildung differenzierter Blutzellen, sondern zur Umwandlung in Fibroblasten und Fibrozyten (32) führt.

In den Ödemherden tauchen sodann neben den retikulären Zellen fibroblastoide Zellen und später auch Fibrozyten auf. Das zunächst homogene Ödem wird langsam faserig organisiert; die Zahl der Fibroblasten und Fibrozyten und der bindegewebigen Fasern nimmt weiter zu, bis die letzten Herde von Hämoese durch Bindegewebe völlig eingemauert, auseinandergedrängt oder gar verschwunden sind. Bei den Bildern mit ganz reifem Bindegewebe fehlen Bindegewebszellen häufig fast ganz. Auch diese Veränderungen werden in klinischen Fällen beschrieben (1, 83, 93).

Das Endstadium, das nicht immer erreicht werden muss, stellt eine Formierung der Bindegewebsfasern zu trabekulären Zügen dar, aus denen durch Kalziumeinlagerung sekundärer mesenchymaler Bindegewebsknochen wird. Die Kalzifizierung nimmt ihren Ausgang von der Knochenmarkperipherie und schreitet in Richtung auf den Zentral sinus fort. In den Trabekeln eingeschlossen liegen "Osteozyten" (93). Die Trabekeloberfläche wird von Osteoblasten bedeckt. An einigen Stellen fallen osteoklastische Umbauzonen auf. Je nach Geschwindigkeit treten solche sklerotischen Veränderungen schon sehr früh auf, in unseren Tieren angedeutet schon am 4. Tag nach Bestrahlung, deutlicher am 10. und 37. Tag, gehäuft jenseits des 80. Tages nach Bestrahlung. Selbst bei stärkster Sklerosierung können noch hämopoetische Inseln gefunden werden. Eine strenge Abhängigkeit zwischen dem Rückgang der Hämopoese und dem Fibrosegrad besteht jedoch nicht, denn man findet auch mässig fibrosiertes Knochenmark, in dem die Hämopoese schon fast völlig verschwunden ist. Von der Kombination solcher Einzelsymptome wie Grad der Fibrose, der medullären wie extramedullären Blutbildung hängt es wohl ab, bis zu welchem Zeitpunkt der betroffene Organismus lebensfähig bleibt. Es sei noch erwähnt, dass der Beginn einer Fibrose auch durch die Bildung von sogenannten Fibrinsternchen im Ödem geprägt sein kann, wie Lennert (53) auch in einigen unserer Fälle nachweisen konnte. Diese Sternchen finden sich auch in fortgeschrittenen Fibrosen neben echtem Bindegewebe und ebenso in der Umgebung von sekundären Geflechtknochen. Auf die ätiologische Bedeutung solcher Gebilde soll an anderer Stelle noch eingegangen werden. Des weiteren sei hinzugefügt, dass in einem Knochenmark alle oder viele Entwicklungsgrade einer Osteomyelofibrose, vom Ödem über verschiedengradige Bindegewebsbildung bis zur beginnenden Sklerosierung, nebeneinander gefunden werden können, wie sich in einigen unserer Tiere zeigte (EF 0109/566 u.a.). Die beschriebenen Veränderungen entsprechen den Befunden Okabayashis (65) sowie Hauswaldts und Hunsteins (40), brauchten bis zu ihrer vollen Ausbildung aber weniger Zeit als in den Versuchen der genannten Autoren. Die erste fortgeschrittene Sklerose tritt nach 37 Tagen auf, während die genannten Autoren Zeitspannen von Wochen bis Monaten nennen. Die Abb. 29-40 sollen unsere Vorstellung über den Ablauf der Histopathogenese veranschaulichen.

Erläuterungen zu den Abb. 29 - 40

Bei allen Abbildungen handelt es sich jeweils um Ausschnitte von KM-Schnitten, die über weite Strecken in der wiedergegebenen Art und Weise verändert sind. Auch die Abb. 33 stellt einen Herd dar, wie es in dem betreffenden Knochenmark mehrere gab.

Abb. 29 (EF 0109/ 88) Fibrorestadium 0 mit Ödem sowie erweiterten (HE, 25 x) und gestauten Sinusoiden.

Abb. 30 (EF 0109/568) Fibrorestadium (+) mit Auftreten reticulärer (HE, 100 x) und fibroblastoider Zellen im Ödem.

Abb. 31 (EF 0109/545) Stadium + mit fibroblastoiden und fibrozytoiden (HE, 100 x Öl) den Zellen und geringer Faserbildung, die in der Silberfärbung deutlich wird.

Abb. 32 (EF 0109/225) Stadium + mit Fibroblasten im Knochenmark. (HE, 100 x Öl)

Abb. 33 (EF 0109/195) Stadium + (+) mit faserig organisiertem lokalem Ödemherd, in dem Bindegewebszellen zu erkennen sind.

Abb. 34 (EF 0109/137) Stadium ++. Zartes, junges Bindegewebe mit (HE, 40 x) Fibroblasten und jungen Fibrozyten.

Abb. 35 (EF 0109/225) Stadium ++(+). Reifere Fibrozyten mit Faserbildung. (HE, 40 x)

Abb. 36 (EF 0109/140) Stadium +++. Deutliche Bindegewebsbildung (HE, 40 x) mit relativ wenigen, reifen Fibrozyten.

Abb. 37 (EF 0109/140) Stadium +++. Vollständige Fibrosierung durch zellarmes Bindegewebe. (HE, 40 x)

Abb. 38 (EF 0109/266) Stadium +++. Silberimprägnation eines vollständig fibrotischen Markes. (Gomörrhi, 40x)

Abb. 39 (EF 0109/100) Stadium +++. Sklerosierende Fibrose mit Hämmopeseinseln und von Fibrozyten gesäumten Osteoidbälckchen, in denen Osteozyten eingeschlossen liegen. (Masson-Goldner, 10 x)

Abb. 40 (EF 0109/100) Stadium +++. Sklerose mit sekundärem Geflechtknochen. (Kossa, 10 x)

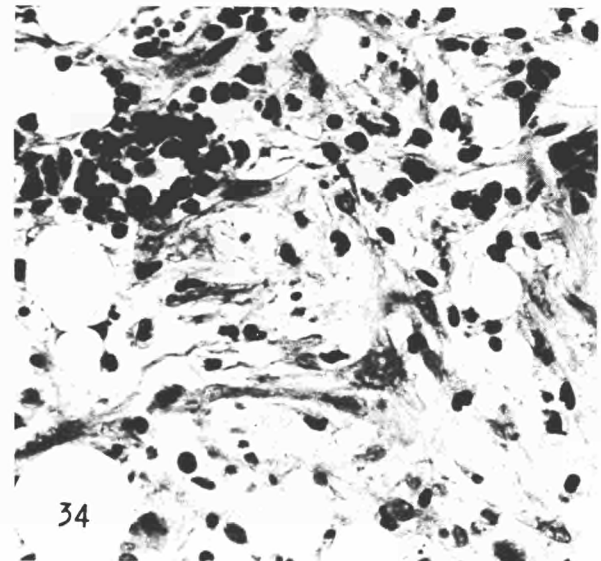
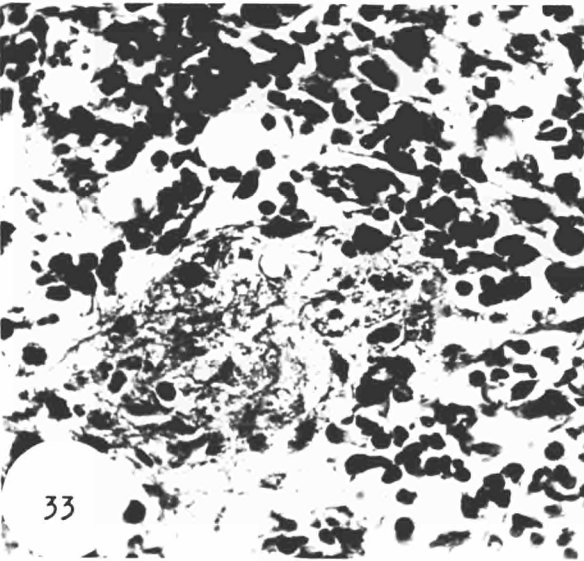
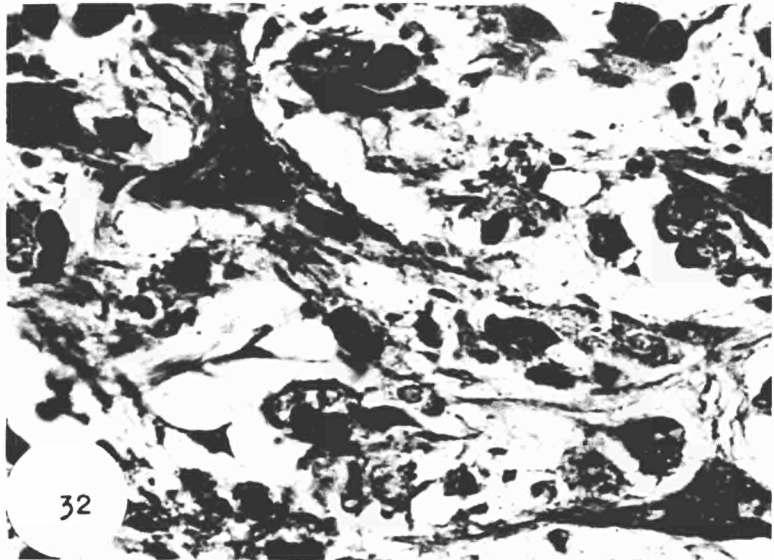
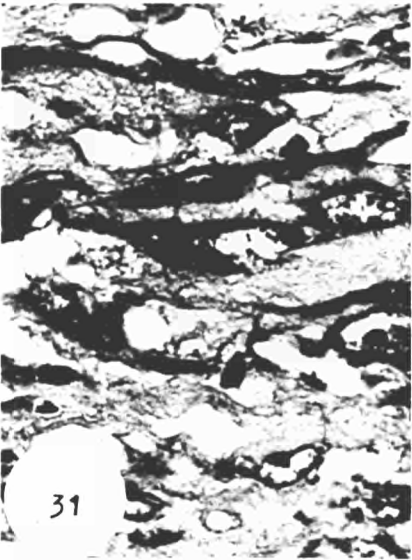
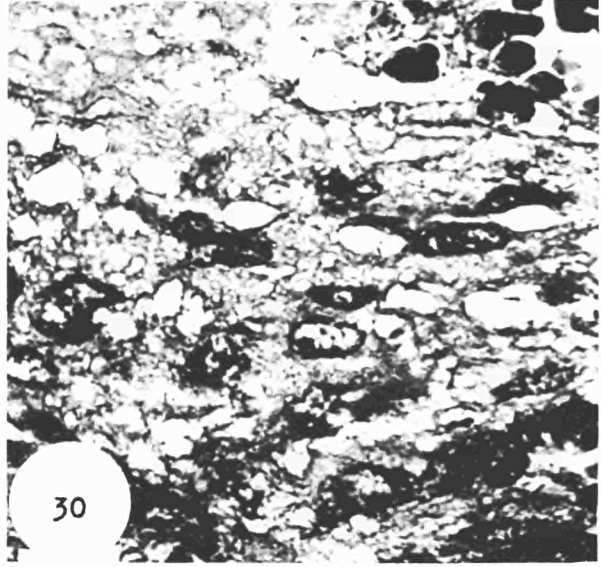
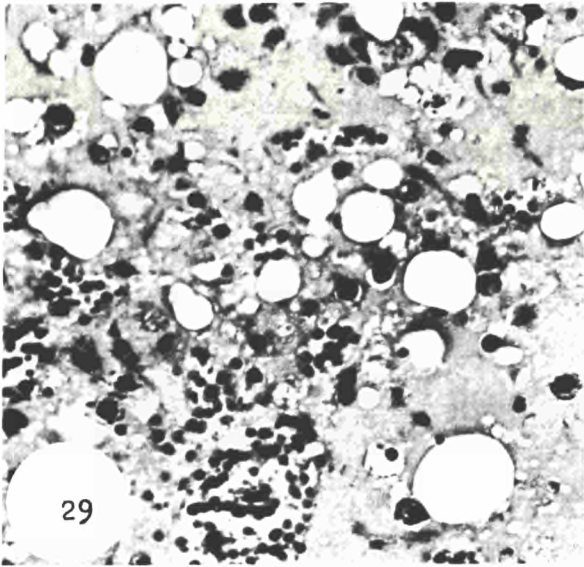


Abb. 29 - 34

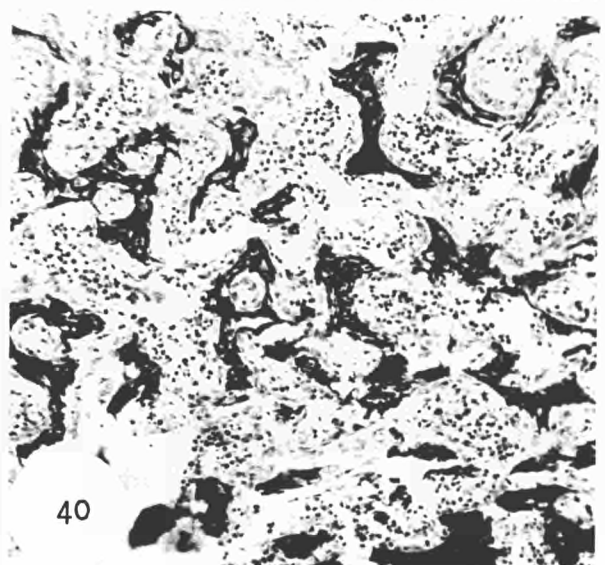
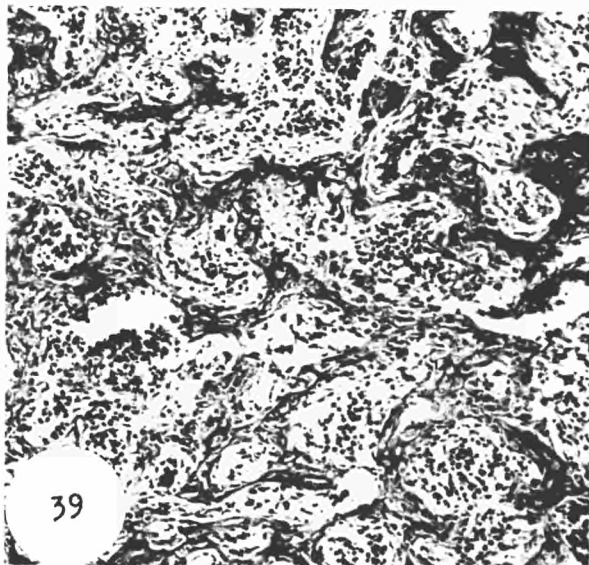
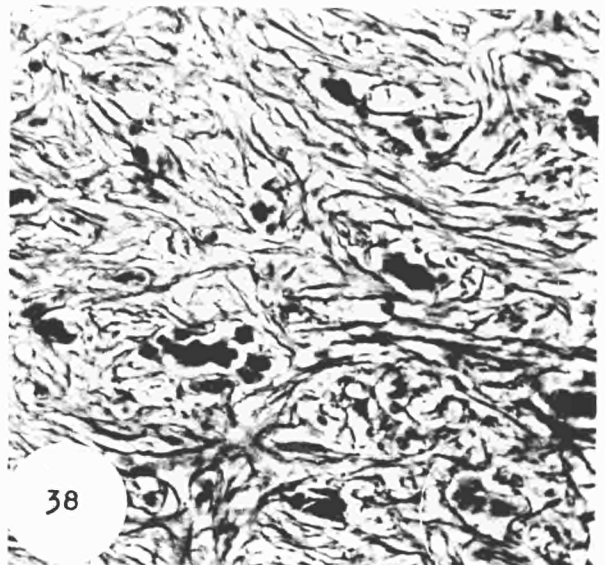
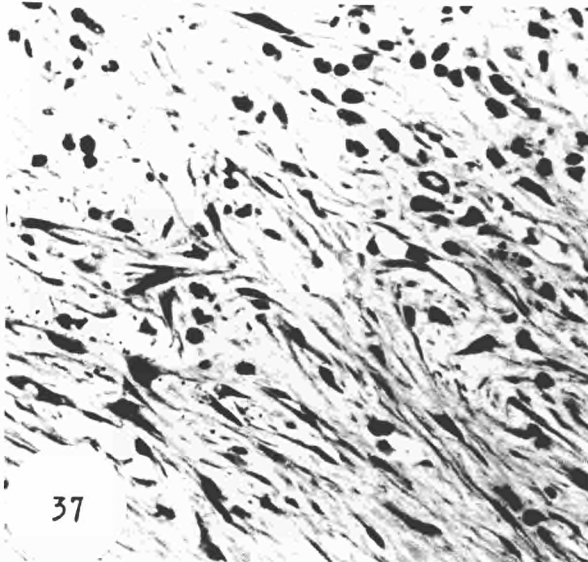
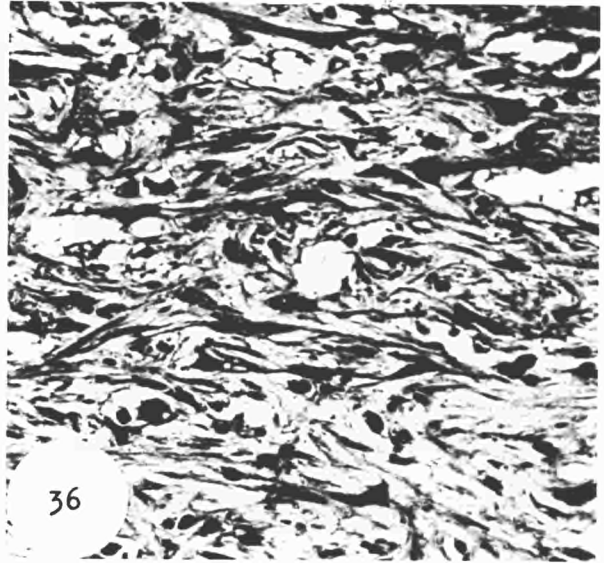
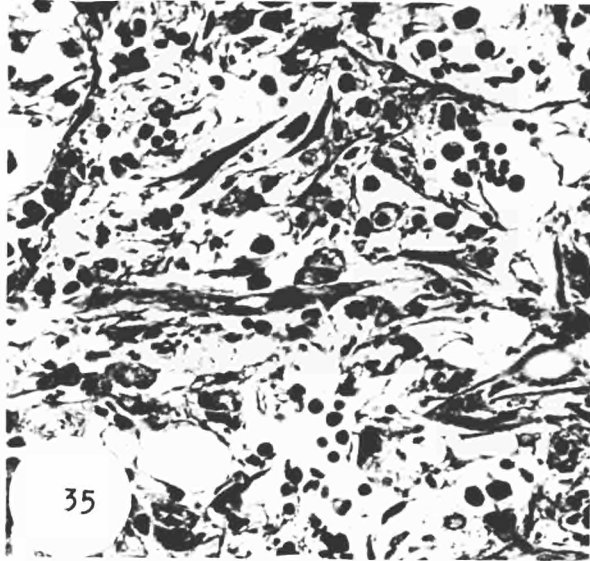


Abb. 35 - 40

5.3. Ätiologie

Für die Ätiologie der beschriebenen Knochenmarksveränderungen gibt es verschiedene Möglichkeiten, die aber offenbar alle in die Durchblutungsstörung mit Exsudation münden.

Es wurden als auslösende Momente beschrieben:

1. Behinderung der Markdurchblutung (76)
2. Chemisch-toxische (78, 1, 79)
3. Entzündliche (46, 3)
4. Injektion von heterologen Antikörpern bzw. Antiseren (62, 69, 65, 44).

Welche Möglichkeiten aufgrund der Befunde und der Versuchsbedingungen in unserem Modell in Frage kommen, soll im folgenden diskutiert werden.

5.3.1. Behinderung der Markdurchblutung

Es wäre vorstellbar, dass durch die strahlenbedingte Knochenmarks-schädigung, die mit dem Versagen des Sinusgefäßsystems verbunden ist, eine Durchblutungsstörung zustande kommt, die unter dem protektiven Effekt der transfundierten Knochenmarkzellen ausreichend lange ein für die Entstehung einer Osteomyelofibrose günstiges Milieu ausbilden kann. Es wäre anzunehmen, dass nur ein ganz bestimmtes Ausmaß der Schädigung mit ganz bestimmten Eigenschaften des Ödems, die wiederum eine spezifische Sauerstoffspannung im Gewebe bedingen, zur Ausbildung einer Fibrose führen. Für diese Annahme würde die verhältnismässig geringe Zahl unserer Fibrosetiere sprechen. Auch die Versuche Selyés (78) zeigen, dass es nur bei einer ganz bestimmten Dosierung von Bleiacetat zur Fibrose- und Skleroseentstehung kommt. Eine solche Theorie wäre natürlich für die Spätfälle unserer Fibrosen ausgeschlossen. Bei diesen Tieren wären es ev. Infekte, oder Immunreaktionen, die das Zustandekommen der beschriebenen Milieubedingungen verursachen.

5.3.2. "Delayed rejection/reverting" - Theorie

Wie in Abschnitt 2.2. ausgeführt, kann es nach Transfusion von allogenen Knochenmark zum Untergang des zeitweilig funktionierenden Transplantates kommen, wobei entweder das Tier zugrunde geht, da seine eigene Zellpopulation zum Ersatz der Spenderzellen nicht fähig ist (delayed rejection), oder das Empfängertier überlebt, weil eigene Zellen an die Stelle des Transplantates treten (reverting).

Wenn im Falle der "delayed rejection" das Versagen des Transplantates nicht plötzlich eintritt, sondern sich mit einer Langsamkeit entwickelt, die im Knochenmark das Zustandekommen von Parenchymnekrosen und Gefäßschäden mit nachfolgendem Ödem erlauben, so könnte auf dieser Basis eine Fibroseentwicklung verständlich werden. Die Retikulumzellvermehrung wäre dann als Ausdruck eines frustrierten Regenerationsversuches zu verstehen. Im Falle des "reverting", das ja einen schrittweisen Ersatz der Spendertypzellen durch Empfängertypzellen bei zeitweiliger Existenz beider Zelltypen nebeneinander darstellt, wäre der Ausgangspunkt für eine Fibroseentwicklung dadurch gegeben, dass die Empfängertypzellen zu einem Zeitpunkt, wo die Spendertypzellen bereits verschwunden sind, noch nicht in der Lage sind, die Regeneration fortdauernd und ausreichend zu übernehmen, was wiederum zu Parenchymuntergängen, Gefäßschäden u.s.w. führen könnte. Die Verteilung unserer Fibrosetiere auf eine Frühphase bis zu 40 Tagen nach Bestrahlung, was etwa der Zeitspanne für eine "delayed rejection" bei Balner (5) entsprechen würde, und auf eine Spätphase jenseits des 70. Tages, Balners "reverting"-Phase, gibt dieser Interpretationsweise ihre Berechtigung. Hinzu kommt, dass sich die einzige Rattenknochenmarkfibrose bei Balner in einer Gruppe mit besonders hoher "delayed rejection" - Rate befand. Das betreffende Tier war einer Behandlung unterzogen worden, die unseren Versuchsbedingungen weitgehend entsprach. Es war nämlich mit 775 r bestrahlt und hatte 1×10^8 allogene Knochenmarkszellen transfundiert bekommen.

5.3.3. Immunologische Ätiologien

Setzt man voraus, dass mit dem übertragenen Knochenmark auch immunologisch kompetente Zellen übertragen werden, die gegen den Empfängerorganismus reagieren können (graft-versus-host-reaction, van Bekkum 10, 11, u.a.), so wird eine immunologische Reaktion als ätiologischer Faktor bei der Entstehung einer Osteomyelofibrose in unserem Versuchsmodell denkbar. Für eine immunologische Ätiologie in unseren Fibrosetieren sprechen verschiedene Punkte. So zum einen der Umstand, dass die eindeutigen Osteomyelofibrosen nur in solchen Tieren auftraten, die allogene Knochenmarkszellen erhalten hatten, zum anderen die Ergebnisse verschiedener Autoren, die mit heterologen Antikörpern bzw. Antiempfängerknochenmarks-serum Fibrosen erzeugen konnten (40, 62, 65), dazu allerdings sehr viel längere Zeit benötigten, nämlich Wochen bis Monate, während in unseren Tieren die Veränderungen schon nach wenigen Tagen auftraten. Auch andere Autoren (70, 50, 19) arbeiteten mit immunologischen Modellen, kamen aber, wohl wegen zu kurzer Versuchsdauer, nicht zu positiven Ergebnissen. Auch die Fibrinsternchen in einigen unserer Präparate, die Lennert (53) als Ausdruck einer Antigen-Antikörperreaktion deutet, würden für eine immunologische Ätiologie sprechen, Dem Einwand, diese Reaktionen seien in unserem Material durch immunsuppressive Vorbehandlung der Suspensionen ausgeschlossen, kann entgegengehalten werden, dass die Fibroserate unabhängig von der Vorbehandlung in allen Gruppen annähernd gleich ist (Tab. 4), des weiteren, dass sich bei später durchgeführten Untersuchungen herausstellte (8), dass Cortison etwa 4 Tage vor Tötung der Spendertiere und anschliessender Transfusion des Markes gegeben werden muss, um eine optimale Senkung lymphatischer Zellen im Spendertier zu erreichen, so dass also in unserem Material, wo Cortison erst unmittelbar vor Tötung der Spendertiere gegeben wurde, die beiden grössten Gruppen, nämlich die Empfänger von unvorbehandeltem und andererseits cortisonvorbehandeltem Knochenmark, als hinsichtlich der Qualität übertragener Zellen etwa gleichartig betrachtet werden muss.

Der geringe Prozentsatz von Fibroseentwicklung liesse sich auf

das verwendete Tiermaterial zurückführen, bei dem es sich um einen seit Jahren "at random" ingezüchteten Wistarstamm handelt, so daß wahrscheinlich nur noch bei einem geringen Prozentsatz das genetische Muster einzelner Tiere von einer für immunologische Reaktionen ausreichenden Differenz ist. Möglicherweise ist es eine genetische Differenz ganz bestimmten Ausmaßes, die bei der nachfolgenden immunologischen Auseinandersetzung zur Ausbildung einer Osteomyelofibrose führt. Auch der Befund, daß bei den spät auftretenden Fibrosen ein erhöhter Anteil von 1:1-Transfusionen vorlag, läßt sich im Sinn einer genetischen Beziehung verstehen. Wenn nämlich bei einer 1:1-Transfusion Spender und Empfänger genetisch stark differieren, kommt es zu einer deutlichen graft-versus-host-reaction mit Todesfolge für den Empfänger, während bei guter genetischer Übereinstimmung das Transplantat angeht und den bestrahlten Empfänger überleben läßt. Dieser Umstand spiegelt sich in den Mortalitätskurven von 1:1 transfundierten Tieren wieder. Sie weisen eine hohe Anfangsmortalität auf bei relativ niedriger Gesamtmortalität (9). Bei einer schwachen genetischen Differenz zwischen Spender und Empfänger könnte es zu einer schleichend verlaufenden graft-versus-host-reaction kommen. Für das Vorhandensein eines "secondary-disease" im Kollektiv der getöteten und dem der myelofibrotischen Ratten sprechen die Eosinophilie, die Leukocytose mit absoluter und relativer Lymphocytose, die Infektionen sowie die Hautveränderungen bei vielen Tieren. Andererseits könnte es beim Wiederaufbau des Empfängerimmunapparates zu einer ebenfalls verhältnismässig schwach verlaufenden Abstoßungsreaktion seitens des Empfängers kommen.

Als immunologische Erklärung des Fibrosephänomens kommen verschiedene Möglichkeiten in Frage:

5.3.3.1. cytotoxische Reaktionen

Die immunkompetenten Zellen bilden gegen zellständige Antigene des Empfängers Antikörper. Im gegebenen Modell stellen Strukturelemente der Empfängerzellen das Antigen dar. Wenn Antikörper auf Zellen treffen, die die für diesen Antikörper antigenen Elemente aufweisen, kommt es zur Anlagerung der Antikörper an die Zellmembran,

was eine Störung der Zellpermeabilität zur Folge hat, die meistens den Zelltod und eine deutliche Entzündungsreaktion nach sich zieht (48, 23). Das morphologisch-histologische Substrat dieser Reaktion umfasst nach Cottier (23) neben Hyperämie und kleinen Einblutungen Zelluntergänge, fibrinoide Verquellung sowie Nekrosen und ist in unserem Material gegeben, wenn auch diese Veränderungen nicht gegen ähnliche, allein als Strahlenfolge zu betrachtende Reaktionen abgegrenzt werden können. Eine Einschränkung erfährt diese Theorie durch den Umstand, dass in der Literatur selbst in einem erwiesenen Chimerenstatus bisher keine zirkulierenden Antikörper nachgewiesen werden konnten.

5.3.3.2. Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp

Während eine cytotoxische Reaktion als auslösendes Moment für eine Fibroseentwicklung vor allem, wenn auch nicht nur, im Rahmen der früh nach Bestrahlung und Transfusion gefundenen Gruppe diskutiert werden müsste, käme für die zweite Gruppe ein anderer Mechanismus in Frage. Wie im Kapitel über die Grundlagen der Transfusion von Knochenmark ausgeführt, kann es im Laufe der Zeit hinsichtlich des Immunverhaltens des Empfängers zu 3 verschiedenen Reaktionen kommen: entweder entwickelt sich ein dauernd funktionstüchtiger Immunapparat, der von Spendertypzellen getragen wird, oder es kommt zu einem Status, in dem beide - Empfänger- und Spenderzelltyp - nebeneinander, ohne gegenseitig zu reagieren, existieren, oder es kommt, nach einer anfänglichen Situation, die einer der beiden erstgenannten entsprach, zu einer Restitution des Immunmechanismus ausschliesslich durch Empfängertypzellen, was gewissermassen die immunologische Variante der "reverting -reaction" Balners (5, 4), die ja nicht zwangsläufig mit einer Immunreaktion verbunden sein muss, darstellen würde. Es wäre auf der Basis dieser Vorgänge denkbar, dass während der langsamen Erholung des empfangereigenen Immunapparates Empfängertypzellen, vor allem lymphatische Elemente, gegen Spendertypzellen sensibilisiert werden und dann mit dem Antigen, eben den Spendertypzellen, in Kontakt treten, was lokale Entzündungen mit allen damit verbundenen Veränderungen nach sich ziehen würde. Diese zellgebundene allergische Reaktion ohne Antikörper

im engeren Sinne wird Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp genannt (23). Die Ausbildung einer Fibrose oder Sklerose wäre dann als Ausdruck eines bestimmten Ausmaßes dieser Reaktion zu verstehen.

Dass eine solche Regeneration des empfängereigenen Immunapparates möglich ist, zeigen Untersuchungen von Cole und Garver (21), die die langsame Erholung des Immunapparates in mit 500 r bestrahlten Mäusen bei gleichzeitiger Transfusion von Milzzellen beschrieben, sowie Ergebnisse von Courteneay (24), die die Abhängigkeit der Immunsuppressivität von der Dosisleistung und der Gesamtdosis bei einer Bestrahlung untersuchte und fand, daß bei einer Gesamtdosis von 800 r bei einer Dosisleistung von 29r/min. ein allogenes Knochenmarktransplantat in Ratten nicht abgestossen wird, es aber zu erheblichen Intestinalschädigungen kam. Dagegen wurden bei einer Gesamtdosis von 2870 r und einer Dosisleistung von 0,28 r/min weder Immunsuppression noch Intestinalschäden gefunden. Wir gaben in unseren Versuchen meist 750 r bei einer Dosisleistung von ebenfalls 29 r/min. Obwohl die Ergebnisse aufgrund des unterschiedlichen Tiermaterials nicht ohne weiteres übertragbar sind, wäre es immerhin denkbar, dass die Dosis von nur 750 r in unseren Tieren einen langsamen Wiederaufbau des Empfängerimmunapparates zulässt.

Zuletzt sei unter der Überschrift "Immunologie" noch auf die Möglichkeit einer

5.3.3.3. Autoimmunreaktion

hingewiesen.

Cottier (23) nennt 3 Wege, die zu Autoimmunreaktionen führen können:

1. Wenn ICC Kontakt zu körpereigenen Substanzen haben, von denen sie sonst getrennt sind, wie z.B. Cornea, Sperma, Milch.
2. Wenn ICE mit Antigenen zusammentreffen, deren Eigenschaften

z.T. auch von körpereigenen Substanzen aufgewiesen werden, so dass die gegen das Antigen gerichtete Antikörperproduktion auch diese Körperstrukturen in Mitleidenschaft ziehen würde.

3. Wenn durch Mutationen neue ICC entstehen, die sich gegen Körperantigene richten.

Die zweite Möglichkeit auf unser Modell angewandt, würde bedeuten, dass die übertragenen ICC aufgrund der relativ engen genetischen Verwandtschaft mit dem Empfängertier bei der Reaktion auf die Empfängerantigene Antikörper bilden, die sich auch gegen eigene - Spender- typstrukturen - richten und Zelluntergang zur Folge haben. Es würde sich hier gewissermassen um eine graft-versus-host - kombiniert mit einer graft-versus-graft-reaction handeln.

Aber auch die dritte Möglichkeit wäre anwendbar, nur daß man an die Stelle der Mutation den Ersatz des durch Bestrahlung ausgefallenen Empfängerimmunapparates durch andere, allogene Zellen setzen müsste, die gegen ihren Wirt reagieren. Diese Interpretation würde im Prinzip natürlich eine graft-versus-host-reaction darstellen. Auf dem Boden dieser immunologischen Auslösung würde dann die pathogenetische Entwicklung der Fibrose ihren Lauf nehmen, die man als spezielle Spielform eines secondary disease auffassen könnte, wie es auch Billingham tut, der nach Nierentransplantation unter der Nierenkapsel bei Anwesenheit von Lymphozyten die Ausbildung von Fibrosen beobachtete (16) und sie als Folge eines spezifischen inflammatorischen Prozesses erklärt.

Obwohl für keine der diskutierten Ätiologien ein direkter und eindeutiger Beweis zu erbringen ist und unsere Reproduktionsversuche nur zu geringen Erfolgen geführt haben, sind doch unsere Befunde in Verbindung mit Angaben in der Literatur eine ausreichende Basis, sich mit den erwähnten Möglichkeiten auseinanderzusetzen.

5.3.3.4. Zusammenfassende Betrachtung der immunologischen Möglichkeiten

Insgesamt sind wir geneigt, das Zustandekommen von osteomyelofi-

brotischen Veränderungen in unserem Tiermaterial auf immunologische Geschehnisse zurückzuführen, wobei offenbar den Fibrosetieren eine spezielle Reaktionslage, die zwischen der der gestorbenen und der der überlebenden, erst später getöteten Tiere stehen müsste, oder Konstellation von Einzelfaktoren, wie übertragener Zellzahl, Ausmass der Spender/Empfängerkompatibilität, Schwere von Infektionen, Ausdehnung der Gewebsschäden und der strahlenbedingten bzw. reaktiven Veränderungen im lymphatischen System zukommt. Auf dem Boden dieser Kombination verschiedener Faktoren, die sozusagen "fibrosespezifisch" wäre, würde für die Fibrosegruppe der ersten 40 Tage nach Bestrahlung eine graft-versus-host-reaction von uns für das Wahrscheinlichste gehalten, die eventuell mit Autoimmunreaktionen im Sinne einer graft-versus-graft-reaction verbunden sein könnte. Natürlich könnte man auch die graft-versus-host-reaction schon als Autoimmunreaktion auffassen, wie Kaplan und Smithers (47) oder Oliner et. al. (66) es tun, wenn man Empfänger und Transplantat als Einheit betrachtet. Für die Fibrosegruppe, die später nach Bestrahlung auftrat, möchten wir eine host-versus-graft-reaction nach dem langsamen Wiedererstarren eines empfängereigenen Immunapparates für das Wahrscheinlichste halten. Aber auch eine verzögert verlaufende graft-versus-host-reaction, vor allem für die 1:1-transfundierte Fälle, ist nicht auszuschliessen. Es muss nochmals betont werden, dass alle beschriebenen Reaktionen natürlich auch ohne Fibrosebildung ablaufen können, wenn sie nämlich in Abhängigkeit von der Schwere und Dauer ihrer Verlaufsform zum baldigen Tod ihres Tieres führen oder aber vom Empfängertier überwunden werden können.

5.3.4. Bedeutung der Rattenmyelofibrose für das Verständnis der klinischen Myelofibrose

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch eine Analyse des zur Verfügung stehenden Tiermaterials die klinische, morphologische und pathogenetische Übereinstimmung der Osteomyelofibrose in unseren Ratten mit den entsprechenden Veränderungen der menschlichen Analogkrankung zu überprüfen, sowie zu einem reproduzierfähigen Versuchsmodell zu gelangen, mit dessen Hilfe mehr Licht in die Hin-

tergründe der menschlichen Osteomyelofibrose gebracht werden könnte. Zum dritten sollte versucht werden, Anhaltspunkte für die ätiologischen Möglichkeiten bei dieser Erkrankung zu finden.

Speziell die Möglichkeit einer Autoimmunreaktion wäre für die Klinik von Bedeutung. Die Entwicklung einer Osteomyelofibrose im Laufe einer therapierten chronisch-myeloischen Leukämie, wie z.B. Hunstein sie beschreibt (45), wäre dann in Parallele zu setzen mit Autoimmunkomplikationen, die im Laufe der Therapie maligner lymphoproliferativer Erkrankungen mit Röntgenstrahlen oder alkylierenden Substanzen auftreten (Lewis, Schwartz, Dameshek 54). Oliner und Mitarbeiter (66) führen die Autoimmunreaktionen bei lymphoproliferativen Erkrankungen oder beim systematisierten Lupus Erythematoses auf genetisch aberrierte Lymphozyten zurück, die aufgrund ihrer Veränderungen als allogene Zellen wirken und gegen das Wirtsgewebe Antikörper bilden. Mit dieser Interpretation stellt er die Beziehung zur graft-versus-host-reaction in seinen mit allogenen Zellen transfundierten und bestrahlten Mäusen her. Diese Betrachtungsweise übernehmend kann man auch die Osteomyelofibrose in unseren Ratten als Autoimmunreaktion betrachten, die sich vor allem gegen das Bindegewebe des Knochenmarkes richtet und als Reaktion allogener immunologisch-kompetenter Zellen gegen das Wirtsgewebe zu verstehen ist. Für eine Autoimmunreaktion sprechen auch die Befunde Okabayashis (65), der bei dem Versuch, experimentell ein dem Lupus Erythematoses ähnliches Bild in Kaninchen zu erzeugen, Knochenmarkfibrosen fand.

Eine andere Möglichkeit für die Veränderung des lymphatischen Systems ist nach Ansicht Oliners (66) die Mutation von Lymphozyten, sei es spontan, durch Chemikalien, Virusinfekte oder ionisierende Strahlen. Die Veränderung solcher Zellen wäre wahrscheinlich mit dem Verlust entsprechender Gene verbunden, so dass der Wirt sie tolerieren würde, die Zellen ihrerseits aber in der Lage wären, gegen autologe Gewebe (Wirt) Antikörper zu bilden. Dieser oder ein ähnlicher Mechanismus könnte nach Ansicht Oliners, aber auch der anderer Autoren (54, 38, 27, 26) das Zustandekommen autoimmuner hämolytischer Anämien und anderer Reaktionen bei chronisch-lymphatischen Leukämien erklären. Ein solcher Mechanismus wäre auch in

Organismen, die letal bestrahlt und mit allogenen Zellen transfundiert wurden, wie es in unseren Versuchen geschehen ist, denkbar, wenn man annimmt, dass der Abwehrapparat im Laufe seiner Erholung mutierte Lymphozyten, die als Produkt der Strahleneinwirkung aufzufassen wären, produziert, auf deren Antikörperproduktion hin nicht nur die Spendertypzellen, sondern auch empfängereigenes Gewebe geschädigt würden.

Auch unter diesem Blickwinkel mutativer Vorgänge könnte man die menschliche Osteomyelofibrose, wie sie bei Polycythämia vera (83), chronisch-myeloischer Leukämie (45) oder nach Ansicht Andrés und seiner Mitarbeiter (2) in Zusammenhang mit Tuberkulose auftreten kann, deuten. Stodtmeister und Sandkühler (83) fiel über diese Zusammenhänge hinaus die gehäufte Angabe rheumatischer Erkrankungen in der Vorgeschichte von Patienten mit Osteomyelofibrose auf, was wiederum einen Hinweis auf autoimmune Reaktionen darstellen könnte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse unserer Untersuchungen an osteomyelofibrotischen Ratten, der Ansicht, dass bestimmte Formen der menschlichen Osteomyelofibrose auch auf Autoimmunreaktionen zurückzuführen seien, neues Gewicht geben.

Ein Versuchsmodell für die Untersuchung osteomyelofibrotischer Knochenmarksveränderungen auf der Basis unserer Befunde konnte mit genügend hoher Reproduzierbarkeit bisher nicht entwickelt werden. Jedoch werden weitere Untersuchungen in dieser Richtung durchgeführt.

7. Literaturverzeichnis

- 1 Andreasen, A.P.
Myelofibrosis
Munksgaard (Copenhagen (1958)
2. André, J., Schwartz, R., Dameshek, W.
Tuberculosis and Myelosclerosis with Myeloid Metaplasia
J.A.M.A. 178: (1961)
- 3 Apitz, K.
Zur Histogenese der Knochenveränderungen bei osteosklerotischer Anämie
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 31 : 486 (1938)
- 4 Balner, H.
Persistence of Tolerance Towards Donortype Antigens after Temporary Chimerism in Rats Transplantation 2 : 464-73 (1964)
- 5 Balner, H.; de Vries, M.J.; van Bekkum, D.W.
Secondary Disease in Rat Radiation Chimeras
J. Nat. Canc. Inst. 32: 419-444 (1964)
- 6 Bargmann, W.
Über den Feinbau der Knochenmarkkapillaren
Zschr. Zellforschung 11, 1 (1930)
- 7 Barnes, D.W.; Ford, C.E.; Gray, S.M.; Loutit, J.F. in:
Progress of Nuclear Energy Series VI Vol. 2
Pergamon Press
- 8 Becker, H.L.
Über den Einfluß von Cortison auf die zelluläre Zusammensetzung des Rattenmarkes
unveröffentlichte Befunde
- 9 Becker, H.L.
Über die Beeinflussung des "secondary disease" bei Ratten durch Spenderbehandlung und Abwandlung des Transfusionsmodus (Einzelspender oder gemischte Spender).
unveröffentlichte Befunde

- 10 van Bekkum, D.W.
Factors Influencing the Take and Rejection of Bone Marrow Graft
VII, Europ. Congr. Hematol., London 1959
- 11 van Bekkum, D.W.
Recovery and Therapy of the Irradiated Organism. In:
Mechanisms in Radiobiology, New York, Aca. Press Inc.
1960, Vol. II Chapt. 5 pp 297-360
- 12 van Bekkum, D.W.; Weyzen, W.W.H.
Serial transfer of isologous and homologous hematopoietic cells in irradiated hosts.
Pathologie of Biologie, Suppl.
zu: Semaine des Hôpitaux
Paris 9 : 888 (1961)
- 13 van Bekkum, D.W.
The Selective Elimination of Immunologically Competent Cells from Bone Marrow and Lymphatic Cell Mixtures.
I. Effect of Storage at 4° C
Transplantation Vol. 2, No. 3, (1964)
- 14 Berenbaum, M.C.
Effect of Cytotoxic Agents on Antibody Production
Nature (London) 185:167 (1960)
- 15 Bernard, J.
Zitiert nach: Heilmeyer, L. u. Begemann H. in
Handbuch der Inn. Med. Bd. 2
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1951)
- 16 Billingham, R.E.
persönl. Mitteilung
- 17 Björklund, B.; Hellström, L.
Studies on the Effect of Anti-Bone-Marrow Serum
Act. Med. Scand. 139: 122-32 (1951)
- 18 Bond, v.P.; Fliedner, T.M.; Archambeau, J.O.
Mammalian Radiation Lethality
A Disturbance in Cellular Kinetics
Acad. Press Inc., New York 1965

- 19 Bracco, M.; Curti, P.C.; Masera, N.
Experimental Production of Blood Disorders in Rats
by Injection of Anti-Erythroblastic, Anti-Leucoblastic
and Antimegacaryocytic Sera
Act. Hematol. (Basel) 6: 91-105 (1951)
- 20 Cole, L.J.; Davis, W.E. jr.
Conditioning of Bone Marrow Graft Recipient by Combined
Radiation-Chemotherapy
siehe 73
- 21 Cole, L.J.; Garver, R.M.
Studies on the Mechanism of Secondary Disease. The
Parental-F₁ Hybrid Radiation Chimera
Rad. Research 12, 398-408 (1960)
- 22 Congdon, C.C.
Experimental Treatment of Total-body Irradiation Injury,
A Brief Report
Blood, 12:746 (1957)
- 23 Cottier, H.
Zur Frage der Spezifität histologischer Befunde bei aller-
gischen Krankheiten.
Schweiz. Med. Wschr. 96 : 1144-46 (1966)
- 24 Courtenay, V.D.
Studies on the Protective Effect of Allogeneic Marrow
Grafts in the Rat Following Whole Body Irradiation at
Different Dose Rates.
Brit. J. Radiol. 36 : 440-47 (1963)
- 25 Cudkowitz, G.; Bennett, M.; Shearer, G.M.
Pluripotent Stem-Cell-Function of the Mouse Marrow
"Lymphocyte"
Science, 144 : 866-868 (1964)
- 26 Dameshek, W.; Schwartz, R.
Leukemia and Auto-immunization - some possible
relationships
Blood 15 : 1151 (1959)

- 27 Dameshek, W.; Schwartz, R.
Hemolytic Mechanisms
Ann. N.Y. Acad. Sci. 77 : 589 (1959)
- 28 David
Zbl. innerer Med. 35:621:1921
- 29 Davis, W.E. jr.; Cole, L.J.
Skin Homograft Tolerance in Long-Lived Radiation
Chimeras and Its Abolition by Injected Lymphoid Cells
J. Nat. Canc. Inst. 27 : 1059-67 (1961)
- 30 Denko, J.D.; Simmons, E.L.; Wissler, R.W.
The Histopathology of Delayed Death in Irradiated
Mice Treated with Homologous Cells
Radiation Res. 11 : 557-71 (1959)
- 31 Doria, G.
Identification of the Immune System Responsible for
the Specificity of Actively Acquired Tolerance in Mice
Proc. Nat. Acad. Sci. 49 : 281 (1963)
- 32 Fieschi, A.; Sacchetti, C.
Knochenmark: Zytologie - Parenchymanteil
Genese der blutbildenden Zellen.
aus: Handbuch der gesamten Hämatologie
Band I, S. 384
Urban-Schwarzenberg Verlag 1957
- 33 Fliedner, T.M.
Hämatologische Befunde beim akuten Strahlensyndrom.
Sonderdruck aus: Deutscher Rö-Kongr. 1963, Teil B
Sonderbände zur Strahlentherapie Bd. 56
- 33a Fliedner, T.M.; Sandkühler, St.; Stodtmeister, R.
Die Knochenmarkstruktur bei Ratten nach Bestrahlung mit
schnellen Elektronen.
Z. für Zellforschung 43, 195-205, 1955
- 34 Fliedner, T.M.; Thomas, E.D.; Meyer, L.H.; Cronkite, E.P.
The Fate of Transfused H^3 -Thymidine-Labeled Bone-Marrow
Cells in Irradiated Recipients.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 114 : 510 (1964)

- 35 Fliedner, T.M.; Stodtmeister, R.; Meyer, L.; Cronkite, E.P.
Nuclear-Medizin, Supplementum 1 ad Vol. II (1962)
- 36 Fliedner, T.M.
Markzell-Suspensionen bei strahlenbedingter Knochenmark-
schädigung
Sonderdruck aus: Strahlentherapie, Bd. 106, Heft 2 (1958)
- 37 Ford, C.E.; Hamerton, J.L.; Barnes, D.W.; Loutit, J.F.
Cytological Identification of Radiation Chimeras
Nature (London) 177 : 452 (1956)
- 38 Green, H.N.
An Immunological concept of cancer: a preliminary report
Brit. Med. J. 2 : 1374 (1954)
- 39 Harris, P.F.; Kugler, J.H.
The Use of Regenerating Bone Marrow to Protect Guinea
Pigs against Lethal Irradiation
Act. Hematol. 32 146-167 (1963)
- 40 Hauswaldt, Ch.; Hunstein, W.; Cohrs, U.
Tierexperimentelle Erzeugung von Knochenmarkfibrosen durch
wiederholte Ovalbumininjektion beim Kaninchen
Schweiz. Med. Wschr. 44 : 1471-72 (1967)
- 41 Heilmeyer, L.; Begemann, H.
Die Retikulumzellen des Knochenmarkes
aus: Handbuch der Inn. Med. Bd. II, 4. Aufl., S. 501
Springer Verlag 1951
- 42 Hétenyi, G.
Recherches expérimentales sur les fonctions de la moelle
osseuse.
Schweiz. Med. Wschr. S. 979 1950
- 43 Hölderlin, H.
Knochenmark und Blutbildung beim sensibilisierten Tier
Virch. Arch. Path. Anat. 302:118 (1938)
- 44 Hunstein, W.; Hauswaldt, Ch.; Hüneck, H.
Tierexperimentelle Erzeugung sklerotischer Markfibrosen nach
Injektion heterologer Antikörper beim Kaninchen.
Klin.WSchr. 45 : 679 (1967)

- 45 Hunstein, W.; Harwerth, H.G.; Raju, S.
Bioptic Studies on the Problem of Therapy-Induced
Bone Marrow Fibrosis in Chronic Myeloid Leukemia
Med. Klinik. 60 : 991-5 (1965)
- 46 Hunstein, W.; Hort, W.
Zum Krankheitsbild der vernarbenden Knochenmarkent-
zündung (Interstitielle Myelitis "Rohr" mit Myelo-
fibrose)
Schweiz. Med. Wschr. 96 1223-25 (1966)
- 47 Kaplan, H.G.; Smithers, D.W.
Autoimmunity in man and homologous disease in mice in
relation to the malignant lymphomas
Lancet 2 : 1 (1959)
- 48 Keller, R.
Hämatologische Aspekte Anaphylaktischer und cytotoxi-
scher Immunreaktionen
Schweiz. Med. Wschr. 97 : 1444-48 (1967)
- 49 Kolár, J.; Jirasek, L.; Vrabec, R.
Occupational Bone Changes Due to External Irradiation
Fortschr. Röntgenstr. 103 : 584-9 (1965)
- 50 Kumar, S.; Saraya, A.K.
Experimental Production of Bone Marrow Aplasia by
Immunological Means
Act. Hematol. (Basel) 26 : 306-320 (1962)
- 51 Lawkowitz, W.; Czerski, P.
Comparative Hematology of Laboratory Animals.
Selected Aspects
Act. Hematol. 36 : 13.26 (1966)
- 52 Lengerová, A.
Polyvalent Immunological Tolerance in Homologous
Radiation Chimeras
Nature (Lond.) 187 : 160-61 (1960)
- 53 Lennert, K.
persönl. Mitteilung

- 54 Lewis, F.B.; Schwartz, R.S.; Dameshek, W.
x-Radiation and alkylating agents as possible "trigger"
mechanisms in the autoimmune complications of malignant lymphoproliferative disease.
- 55 Libansky, J.
Study of Immunologic Reactivity in Hemoblastosis.
Circulating Antibody Formation as a Response to
Antigenic Stimulus in Leukemia, Malignant Lymphoma,
Myeloma and Myelofibrosis
Blood 25 : 169-78 (1965)
- 56 Lorenz, E.; Uphoff, E.D.; Reid, T.R.; Shelton, E.
Modification of Irradiation Injury In Mice and Guinea-Pigs
by Bone Marrow Injections
J. Nat. Canc. Inst. 12 : 196, 1951
- 57 Loutit, J.F.
Biocycles in the Reticuloendothelial System
Ann. of the N.Y. Acad. of Sciences 88 : 122-33 (1960)
- 58 Mathé, G.; Amiel, J.L.; Matsukura, M.; Méry, A.M.
Restoration of Hemopoietic Function in the Irradiated
Mouse by Means of Allogenic Bone Marrow Grafts from
Several Donors of Different Strains
Brit. J. of Hematol. 10 : 257-63 (1964)
- 59 Mc. Culloch, E.A.; Till, J.E.
The Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow
Cells, Determined by Quantitative Marrow Transplantation
into Irradiated Mice
Radiation Research 13, 115-125 (1960)
- 60 Meyer, L.M.; Fliedner, T.M.; Cronkite, E.P.
Autologous Bone Marrow Transfusion Following Chemotherapy
N.Y. Acad. of Sciences, 114 : 499 - 508 (1964)
- 61 Michie, D.; Woodruff, M.F.A.; Zeiss, J.M.
An Investigation of Immunological Tolerance Based on
Chimera Analysis
Immunology 4 : 413 (1961)

- 62 Nettleship, A.
Bone Marrow Changes Produced by Specific Antibodies
Amer. J. Pathol. 18 : 688-97 (1942)
- 63 Nowell, P.C.; Cole, L.J.; Roan, P.L.; Habermeyer, J.G.
The distribution and in-situ-growth-pattern of injected
rat marrow in x-radiated mice.
J. Nat. Canc. Inst. 18, 127 (1957)
- 64 Oettgen, H.F.; Pribilla, W.
Erythrokinetics in Osteomyelofibrosis (Studies of the
Production and Destruction of Erythrocytes with cr 51,
Fe⁵⁹)
Klin. Wschr. 42 : 483-90 (1964)
- 65 Okabayashi, A.
Prolonged Sensitization and Collagen Diseases.
An Experimental Study
Proc. VIIIth. Intern. Congr. Hematol. Tokyo p. 1385-90,
(1960)
- 66 Oliner, H.; Schwartz, R.; Dameshek, W.
Studies in experimental autoimmune disorders
I. Clinical and laboratory features of autoimmunization
(runt disease) in the mouse
Blood 17 : 20 (1961)
- 67 Owens, A.H. jr.
Effect of Cytotoxic Drugs on the Course of Graft-versus-
Host Disease in Mice
Exp. Hematol. 10 : 13 (1966)
- 68 Peace, R.J.
Myelonecrosis, Extramedullary Myelopoiesis and
Leukoerythroblastosis
Amer. J. Pathol. 29 : 1029-57 (1953)
- 69 Pentimalli, F.
Über chronische Proteinvergiftung und die durch sie
bewirkten Veränderungen der Organe.
Virch. Arch. Path. Anat. 275 : 193-229 (1929)

- 70 Plies, G.; Mai, K.
Knochenmarkveränderungen nach Einwirkung von Antiseren
Verh. dtsh. Ges. Pathol. 46 : 136 (1962)
- 71 Porter, K.A.
Use of Foetal Hemopoietic Tissue to Prevent Late Deaths
in Rabbit Radiation Chimeras
Brit. J. of Exp. Pathol. 40 : 273-80 (1959)
- 72 Puck, Th.T.; Marreus, Ph. J.
Action of x-rays on Mammalian Cells
J. Exp. Med. 103 : 653-66 (1965)
- 73 van Putten, L.M.
Secondary Disease in Different Species and Its Modifi-
cation
La Greffe Des Célules Hématopoiétiques Allogéniques
Editions Du Centre National de la Recherche Scientifique
Bd. 147, 1965
- 74 Retznikoff
Diskussionsbemerkung
in: Dameshek, W.
Physiopathology and Course of Polycythemia vera as
related to therapy
J.A.M.A. 142 : 796 (1950)
- 75 Rohr, K.
Das retikulo-histiocytäre System des Knochenmarkes
aus: Das menschliche Knochenmark, S. 72
Thieme-Verl. (1960)
- 76 Rutishauser, E.; Rohner, A.; Held, D.
Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung der
Ischämie auf den Knochen und das Mark.
Virch. Arch. Pathol. Anat. 333 : 101-118 (1960)
- 77 Schwartz, R.; Dameshek, W.
Drug-Induced Immunological Tolerance
Nature (London) 183 : 1682 (1959)

- 78 Selye, H.; Gabbiani, G.; Tuchweber, B.
An Experimental Model of Osteomyelosclerosis
Act. Haematol. 29 : 51-62 (1963)
- 79 Starcich, R.; Chizzola, A.; Rastelli, G.
La Reazione Stromale Fibrosclerotica Provocata
Nel Midello Osseo Da Somministrazione Endovenosa
Di Acetato di Piombo
Riv. Anat. Pathol. 24 : 1247 (1963)
- 80 Sterzl, J.
Inhibition of the Inductive Phase of Antibody Formation
by 6-Mercaptopurine Examined by the Transfer of Isolated
Cells
Nature (London) 185 : 256-57 (1960)
- 81 Sterzl, J.
Effect of Some Metabolic Inhibitions on Antibody
Formation
Nature (London) 183 : 1022 (1961)
- 82 Stodtmeister, R.; Fliedner, T.M.
Entstehungsweise und Ablauf einer erythropoetischen Phase
in der Rattenmilz nach Ganzkörperbestrahlung.
Schweiz. Med. Wschr. Bd. 96 Sonderdruck
S. 1280-82 (1966)
- 83 Stodtmeister, R.; Sandkühler, St.; Laur, A.
Osteosklerose und Knochenmarkfibrose
T. Thieme Verlag, Stuttgart 1953
- 84 Stodtmeister, R.; Sandkühler, St.; Fliedner, T.M.
Über die Beziehungen des Ausschwemmungsmechanismus
zur Sinusfunktion im Knochenmark
Schweiz. Med. Wschr. 39/40 1225, 1957
- 85 Stodtmeister, R.; Sandkühler, St.; Fliedner, T.M.
Die Bedeutung von Gefäßwandschäden für die Pathogenese
der Blutbildungsstörung bei Ratten nach Ganzkörperbestrah-
lung mit 15 Mev. Elektronen
Strahlentherapie Bd. 101, Heft 2, 1956 Sonderdruck

- 86 Szasz, G.
Experimentelle myeloische Proliferation bei Kaninchen
Z. Ges. Inn. Med. 20 : 211 (1965)
- 87 Thomas, E.D.; Collins, J.A.; Hermann, E.C. jur.; Ferrebee, J.W.
Marrow Transplants in Lethally Irradiated Dogs Given
Methotrexate
Blood 19 : 217 (1962)
- 88 Till, J.E.; Mc. Culloch, E.A.
A direct Measurement of the Radiation Sensitivity of
Normal Mouse Bone Marrow Cells
Radiation Res. 14, No. 2 (1961)
- 89 Transbøl, K.
De allergiske blodsygdomme
Kolding 1942, Dissertation
- 90 Trentin, J.J.
Grafted-marrow-rejection mortality contrasted to
homologous disease in irradiated mice receiving homo-
logous bone marrow
L. Nat. Canc. Inst. 22 : 219 - 21 (1959)
- 91 Upphoff, E.D.
Alteration of Homograft Reaction by Amethopterin in
Lethally Irradiated Mice Treated with Homologous Marrow.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 99 : 651-53 (1958)
- 92 Wooles, W.R.; Di Luzio, N.R.
Influence of Reticulo-Endothelial Hyperfunction on Bone-
marrow-Transplantation
Am. J. Physiol. 203 : 404-408 (1962)
- 93 Wyatt, J.P.; Sommers, S.C.
Chronic Marrow Failure, Myelosclerosis and
Extramedullar Hematopoiesis
Blood 5 : 329 (1950)

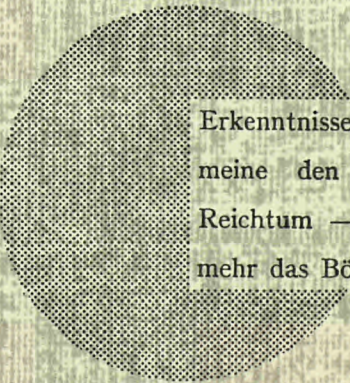
AN UNSERE LESER

Alle Euratom-Berichte werden nach Erscheinen in der von der Zentralstelle für Information und Dokumentation (CID) herausgegebenen Monatszeitschrift **EURATOM INFORMATION** angezeigt. Abonnements (1 Jahr : DM 60) und Probehefte sind erhältlich bei :

Handelsblatt GmbH
"Euratom Information"
Postfach 1102
D-4 Düsseldorf (Deutschland)

oder

Office central de vente des publications
des Communautés européennes
2, Place de Metz
Luxembourg



Erkenntnisse verbreiten ist soviel wie Wohlstand verbreiten — ich meine den allgemeinen Wohlstand, nicht den individuellen Reichtum — denn mit dem Wohlstand verschwindet mehr und mehr das Böse, das uns aus dunkler Zeit vererbt ist.

Alfred Nobel

VERTRIEBSSTELLEN

Alle Euratom-Berichte sind bei folgenden Stellen zu den auf der ersten Rückseite des Umschlags angegebenen Preisen erhältlich (bei schriftlicher Bestellung bitte die EUR-Nummer und den Titel, die beide auf der ersten Umschlagsseite jedes Bericht stehen, deutlich angeben).

OFFICE CENTRAL DE VENTE DES PUBLICATIONS DES COMMUNAUTES EUROPEENNES

2, place de Metz, Luxembourg (Compte chèque postal N° 191-90)

BELGIQUE — BELGIË

MONITEUR BELGE
40-42, rue de Louvain - Bruxelles
BELGISCH STAATSBLAD
Leuvenseweg 40-42, - Brussel

LUXEMBOURG

OFFICE CENTRAL DE VENTE
DES PUBLICATIONS DES
COMMUNAUTES EUROPEENNES
9, rue Goethe - Luxembourg

DEUTSCHLAND

BUNDESANZEIGER
Postfach - Köln 1

NEDERLAND

STAATSDRUKKERIJ
Christoffel Plantijnstraat - Den Haag

FRANCE

SERVICE DE VENTE EN FRANCE
DES PUBLICATIONS DES
COMMUNAUTES EUROPEENNES
26, rue Desaix - Paris 15^e

ITALIA

LIBRERIA DELLO STATO
Piazza G. Verdi, 10 - Roma

UNITED KINGDOM

H. M. STATIONERY OFFICE
P. O. Box 369 - London S.E.1

EURATOM — C.I.D.
51-53, rue Belliard
Bruxelles (Belgique)

CDNA04043DEC