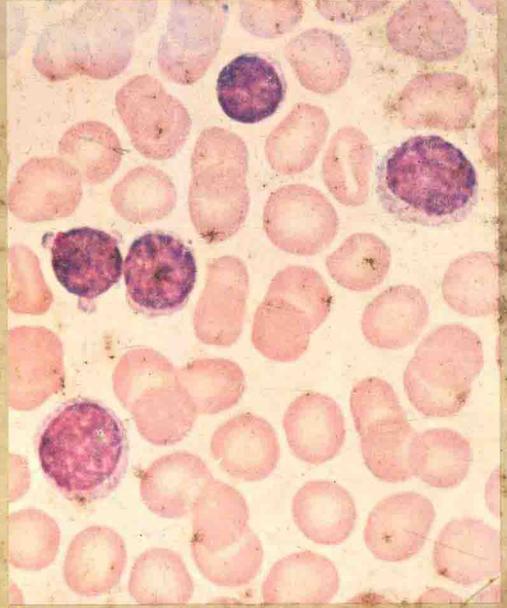
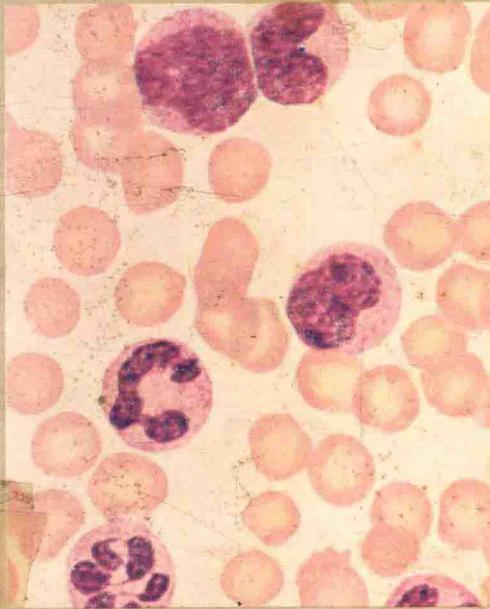


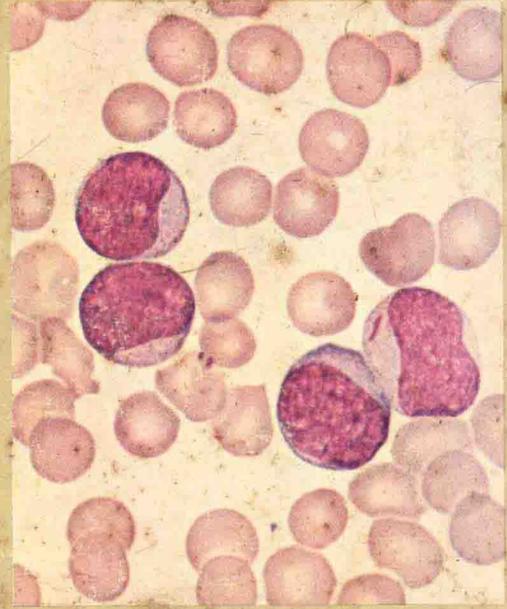
1



2



3



4

**KLEINES  
VADEMECUM HAEMATOLOGICUM  
NORDMARK**

②  
**KLEINES  
VADEMECUM HAEMATOLOGICUM  
NORDMARK**

**Eine Einführung in die Blutzellkunde**

**von**

① **F. WENDT**

Unveränderter Nachdruck der Ausgabe von 1974

4  
**NORDMARK-WERKE GMBH HAMBURG**

**1979**

# INHALT

<b>Einleitung</b>	3
<b>Grundlagen</b>	4
<b>Hämatologische Untersuchungsmethoden</b>	10
Gewinnung von Blut für hämatologische Untersuchungen	10
Hämatokrit	10
Hämoglobinbestimmung	12
Erythrozytenzahl	14
Erythrozytendimensionen und die morphologische Klassifikation der Anämien	16
Retikulozytenzahl	18
Thrombozytenzahl	20
Leukozytenzahl	24
Anfertigung und Differenzierung eines Blutausstrichs	26
<b>Morphologische Charakterisierung der Blutkörperchen</b>	30
Zellen der Granulopoese	36
Monozyten	37
Zellen des lymphatischen Systems	38
Zellen der Erythropoese	39
<b>Anfertigung und Beurteilung von Knochenmarkspunktat</b>	39
Störungen der Erythropoese	41
Störungen der Granulopoese	41
Störungen des thrombozytären Systems	42
Störungen der gesamten Blutzellbildung	42
Leukämien und andere Hämoblastosen	42
<b>Bildteil</b>	

②  
**KLEINES  
VADEMECUM HAEMATOLOGICUM  
NORDMARK**

Eine Einführung in die Blutzellkunde

von

① **F. WENDT**

Unveränderter Nachdruck der Ausgabe von 1974

4  
**NORDMARK-WERKE GMBH HAMBURG**

**1979**

# INHALT

<b>Einleitung</b>	3
<b>Grundlagen</b>	4
<b>Hämatologische Untersuchungsmethoden</b>	10
Gewinnung von Blut für hämatologische Untersuchungen	10
Hämatokrit	10
Hämoglobinbestimmung	12
Erythrozytenzahl	14
Erythrozytendimensionen und die morphologische Klassifikation der Anämien	16
Retikulozytenzahl	18
Thrombozytenzahl	20
Leukozytenzahl	24
Anfertigung und Differenzierung eines Blutausstrichs	26
<b>Morphologische Charakterisierung der Blutkörperchen</b>	30
Zellen der Granulopoese	36
Monozyten	37
Zellen des lymphatischen Systems	38
Zellen der Erythropoese	39
<b>Anfertigung und Beurteilung von Knochenmarkspunktat</b>	39
Störungen der Erythropoese	41
Störungen der Granulopoese	41
Störungen des thrombozytären Systems	42
Störungen der gesamten Blutzellbildung	42
Leukämien und andere Hämoblastosen	42
<b>Bildteil</b>	

Prof. Dr. med. F. Wendt, Mediz. Abteilung, Ev. Krankenhaus Essen-Werden

## Einleitung

Die Hämatologie ist die Wissenschaft vom Blut und den blutbildenden Organen. Objekte dieser Wissenschaft im Rahmen der Medizin sind Morphologie und Physiologie sowie Erkrankungen von Knochenmark und lymphatischem System als Blutbildungsstätten. Die praktische Basis ist das Studium der normalen Verhaltensweisen und der krankhaften Veränderungen des Blutes.

Die Blutkörperchen, die zellulären Elemente des Blutes, sind der Gegenstand dieses Büchleins. Auf die Veränderungen der Plasmaproteine (Proteinpathologie und Immunpathologie) wird ebenso nicht eingegangen werden wie auf die Störungen der Blutgerinnung (hämorrhagische Diathesen, Koagulopathien). Dies hat didaktische Gründe, denn dieses kleine Vademecum soll eine Einführung und ein Begleiter für das Studium der Morphologie der normalen und krankhaft veränderten Blutkörperchen sein. Darüber hinaus wird eine Einführung in die Methodik der morphologischen Knochenmarksuntersuchung gegeben.

Das Bildmaterial steht wie in den früheren Auflagen im Vordergrund. Die gemalten Abbildungen sind fast ausnahmslos durch Mikrophotographien ersetzt worden, deren Informationswert nicht nur für den Erfahrenen, sondern auch für den Anfänger wegen ihrer Wirklichkeitsnähe höher einzuschätzen ist. Die Bilder zeigen die Vielfalt der Variablen, die dem Anfänger gewöhnlich große Schwierigkeiten bereitet. Die Auswahl der Bilder ist nicht unter dem Gesichtspunkt der Vollständigkeit einer morphologisch-hämatologischen Sammlung erfolgt, vielmehr wurde bewußt auf häufig vorkommende morphologische Phänomene und Prinzipien ihrer Erkennung Wert gelegt.

Der Methodenteil umfaßt nur jene Basismethoden, die in der klinischen und allgemeinärztlichen Praxis als Routinemethoden in Frage kommen: Hämatokrit, Hämoglobinbestimmung, Zählungen von Erythrozyten, Retikulozyten, Thrombozyten, Leukozyten und Differenzierung eines Blutausstrichs. Für spezielle Methoden wird auf die einschlägigen Lehr- und Handbücher verwiesen. Eine Auswahl, die keinen Anspruch auf Vollständigkeit erhebt, gibt die folgende Liste:

### *Hämatologische Methodik*

- BOROVICZENY, K. G. v. u. R. MERTEN: Systematik der Qualitätskontrolle im medizinischen Laboratorium  
Medicus-Verlag, Berlin 1972
- CARTWRIGHT, G. E.: Diagnostic Laboratory Hematology, 4th Edition  
Grune & Stratton, New York-London 1968
- DACIE, J. V. u. S. M. LEWIS: Practical Hematology, 3rd Edition  
J. & A. Churchill Ltd., London 1963
- DEUTSCH, E. u. G. GEYER: Laboratoriumsdiagnostik, 1. Auflage  
A. Steinkopf, Berlin 1969
- EBERHAGEN, D.: Klinische Chemie und Hämatologie  
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1970
- FISCHER, J. u. R. WOLF: Nuklearmedizinische Diagnostik in der Hämatologie  
Farbwerke Hoechst AG, Eigenverlag
- HUBER, H., D. PASTNER u. F. GABL: Laboratoriumsdiagnose hämatologischer und immunologischer Erkrankungen  
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1972
- Klinisches Labor, 11. Auflage der medizinisch-chemischen Untersuchungsmethoden  
E. Merck AG, Darmstadt 1970
- RICK, W.: Klinische Chemie und Mikroskopie  
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1972
- STOBBE, H.: Untersuchungen von Blut und Knochenmark  
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1968

## *Atlanten und Lehrbücher der klinischen Hämatologie*

- BEGEMANN, H. u. H. G. HARWERTH: Praktische Hämatologie, 5. Auflage  
Thieme, Stuttgart, 1972
- BEGEMANN, H. (Herausgeber): Klinische Hämatologie  
Thieme, Stuttgart 1970
- BEGEMANN, H. u. J. RASTETTER: Atlas der klinischen Hämatologie, 2. Auflage  
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1972
- BURKHARDT, R.: Farbatlas der klinischen Histopathologie von Knochenmark und Knochen  
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1970
- HAYHOE, F. G. J. u. R. J. FLEMANS: Atlas der hämatologischen Cytologie  
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1969
- HECKNER, F.: Leitfaden der Blutzellkunde  
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1965
- McDONALD, G. A., T. C. DODDS u. B. CRUICKSHANK: Atlas der Hämatologie, 2. Auflage  
Thieme, Stuttgart 1972
- SCHUDEL, L.: Leitfaden der Blutmorphologie, 11. Auflage  
Thieme, Stuttgart 1965
- STOBBE, H.: Hämatologischer Atlas, 3. Auflage  
Akademie-Verlag, Berlin 1970
- UNDRITZ, E.: Hämatologische Tafeln Sandoz, 2. Auflage  
Sandoz AG, Basel 1972
- WINTROBE, M. M.: Clinical Hematology, 6th Edition  
Lea & Febiger 1967

### **Grundlagen**

Die zellulären Elemente des Blutes gliedern sich in 3 Klassen: Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten. Bei den Leukozyten sind als Unterklassen zu unterscheiden: Granulozyten (also Leukozyten mit spezifischen neutrophilen, eosinophilen oder basophilen Granula), Monozyten und Lymphozyten.

Die Entwicklung aller zellulären Elemente des Blutes vollzieht sich nicht im Blut selbst, sondern im Knochenmark. Die Entwicklung der Lymphozyten vollzieht sich außerdem in den lymphatischen Organen (z.B. Milz und Lymphknoten). Im Knochenmark finden die Differenzierung und Reifung der in mehreren Teilungsschritten zugleich an Zahl zunehmenden Zellen statt. Die Entwicklung nimmt ihren Ausgang bei den verhältnismäßig wenigen, noch undifferenzierten „Stammzellen“, führt über die mehrfachen mitotischen Zellteilungen (bei Megakaryozyten: Kernteilungen) zu einer großen Zahl reifer Elemente. In Abb. I ist eine schematische Übersicht über die verschiedenen Zell-Linien und die Nomenklatur ihrer Reifungsstadien gegeben.

In der Entwicklung einer Zelle von der Stammzelle über die Zwischenstadien bis zur ausgereiften Endzelle laufen Proliferation (Zellvermehrungsvorgänge) und Reifung (Ausbildung der funktionsspezifischen Zellorganellen, Substrate und Enzymsysteme) über bestimmte Zeitabschnitte parallel. Dies wird in Abb. II schematisch dargestellt. Die Zelle links ist eine ungranulierte Zelle, die gerade aus einer mitotischen Zellteilung hervorgegangen ist. Sie wird mit der Zeit durch die Phasen der für die Proliferation charakteristischen Generationszeit hindurchgehen, in deren mittlerem Teil im Kern der Zelle die Verdoppelung der Desoxyribonukleinsäure, also des Trägers der genetischen Information der Zelle, liegt. Diese Phase ist durch einen Anstieg der waagrecht verlaufenden Linie charakterisiert. Am Ende des Ablaufs der Generationszeit liegt eine erneute Mitosephase, in der aus der einen Zelle wiederum 2 Tochterzellen hervorgehen. — Während der Generationszeit

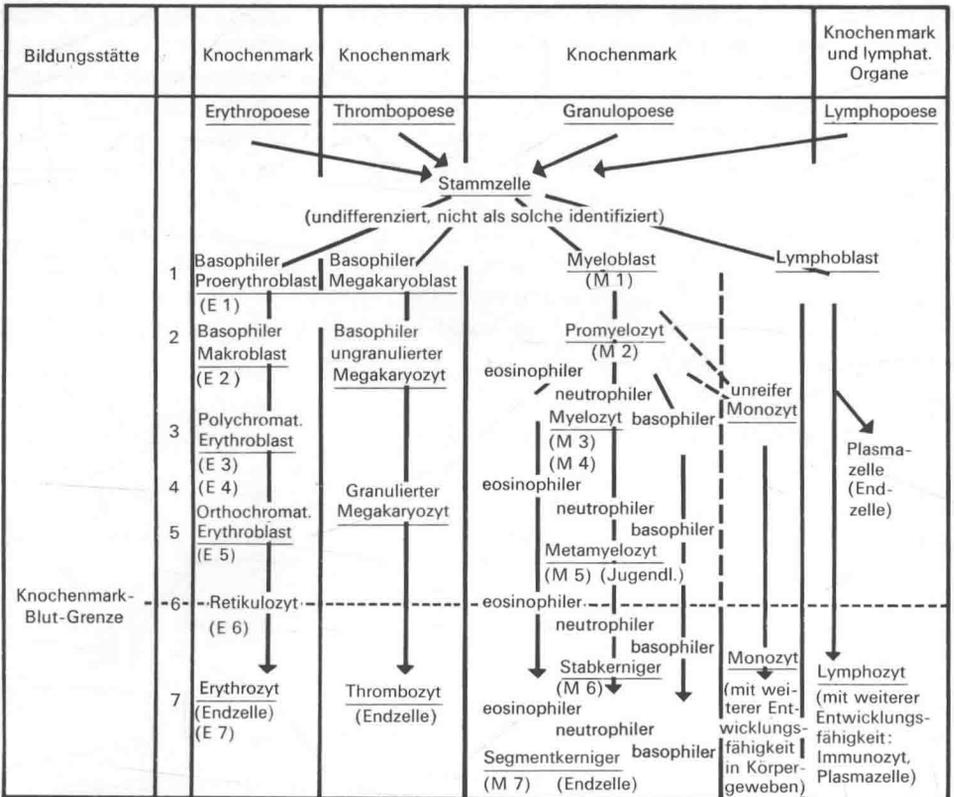


Abb. 1: Schematische Darstellung der Zell-Linien der Blutzellbildung unter Berücksichtigung der Bezeichnung der differenzierbaren Reifungsstadien.

sind in dieser Zelle zugleich mit den proliferativen Vorgängen Reifungsvorgänge abgelaufen: es haben sich in diesem gezeichneten Beispiel Granula gebildet, und die Struktur des Chromatins im Kern ist dichter geworden.

In Abb. III sind diese Vorgänge in ein schematisches Modell der Granulopoese übertragen. Wiederum wird ausgegangen von einer „Abteilung von undifferenzierten Stammzellen“, die man als solche morphologisch nicht differenzieren, nicht erkennen kann. Diese Stammzellen befinden sich nur zum Teil im Proliferationszyklus, zum Teil liegen sie in  $G_0$ -Phase vor; die  $G_0$ -Phase ist eine Ruhephase, in der die Zellen in Bereitschaft für proliferative Vorgänge sind. Trifft ein „Induktionsreiz“, wie in unserem Modell, eine solche Stammzelle, wodurch sie zur Differenzierung in die Granulopoese hineingezwungen wird, dann wird die Stammzelle diesen Weg antreten und — wie auf einem unablässig rollenden Paternoster — im Rhythmus der typenspezifischen Generationszeiten unter gleichzeitiger Entwicklung der typenspezifischen Zellorganellen die Stadien Myeloblast (M 1), Promyelozyt (M 2), Myelozyt (M 3 und M 4) durchlaufen, wobei aus 1 Stammzelle zwischen 8 und 16 Myelozyten werden. Dies ist abhängig davon, ob bzw. wieviele Mitosen im Abschnitt M 4 noch stattfinden oder ob die Proliferation in diesem

Reifestadium bereits abgeschlossen ist. Die Metamyelozyten (Jugendliche, M 5) sind im Regelfalle nicht mehr teilungsfähig, in diesem Stadium hat die Zelle die Phase der „Reifung allein“ erreicht, die dann unaufhaltsam weiterführt zum Stabkernigen (M 6) und Segmentkernigen (M 7), die aus dem Knochenmark in das Blut übertreten und uns im Blutausschlag begegnen. Von dort kehren sie nicht mehr ins Knochenmark zurück, sondern verlassen die Zirkulation im kapillären Teil des Blutgefäßsystems, oder aber sie werden durch Organe wie z.B. Milz und Lunge sequestriert, aus der Blutbahn eliminiert. Ein ähnliches Schema könnte auch für die Erythropoese aufgestellt werden, wobei dann die Bezeichnung M 1—M 4 durch E 1—E 4, M 5 durch E 5 als orthochromatischer Erythroblast ersetzt wird. Die Stelle des M 6 nimmt dann als E 6 der Retikulozyt ein, die Stelle des M 7 als E 7 der normale Erythrozyt, siehe Abb. I.

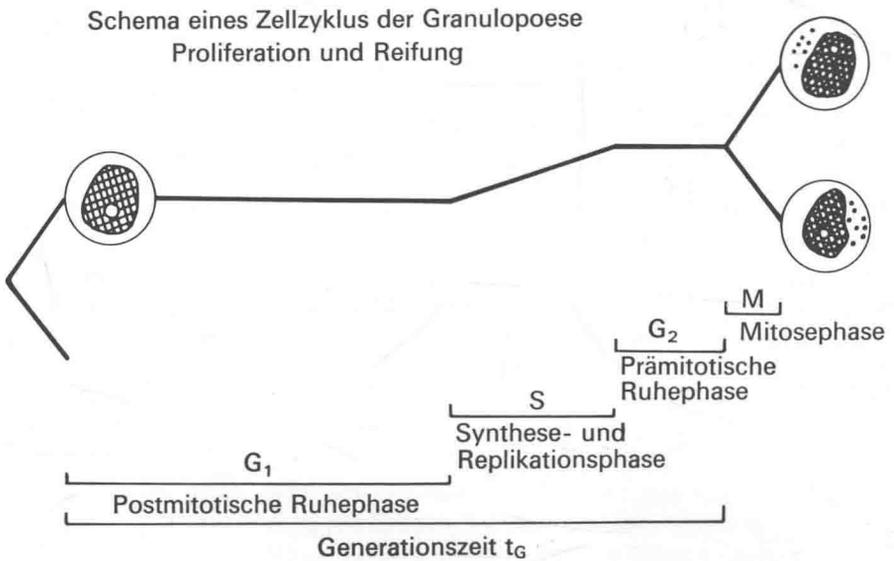


Abb. II: Einteilung eines Zellzyklus in Generationszeit  $t_G$  und Mitosephase, Einteilung der Generationszeit in postmitotische Ruhephase  $G_1$ , Synthese- und Replikationsphase S, prämitotische Ruhephase  $G_2$ . Gleichzeitigkeit von Vorgängen der Proliferation und der Zellreifung.

Diese Schemata sollten dynamisch gesehen werden: Die Systeme befinden sich wie ein laufender Paternoster in stetiger Bewegung, in stetigem Fluß von unreif nach reif; ein feingesteuertes Regulationssystem hält Zufluß und Abfluß im Gleichgewicht (Fließgleichgewicht, „steady state equilibrium“). Die Regulationssysteme sind für die verschiedenen Blutzelltypen jeweils mehr oder weniger spezifisch, sind offenbar mehrgleisig angelegt und arbeiten teils mit negativen und teils auch mit positiven Rückkoppelungsmechanismen („feed-back-mechanism“). Beispiel für einen gesicherten negativen Rückkoppelungsmechanismus: auf Blutverlust erfolgt unmittelbar eine Anregung der Erythropoese. — Beispiel für einen zu vermutenden positiven Rückkoppelungsmechanismus: anhaltende Erhöhung

der neutrophilen Blutgranulozyten bei einer eitrigen Entzündung. Die Anpassungs-kapazität der blutzellbildenden Systeme an Mehrbelastung ist ganz beträchtlich und erreicht ein Vielfaches der normalen Produktion pro Zeiteinheit.

Da es sich bei den blutzellbildenden Systemen um Zellerneuerungs- oder Mauerungssysteme mit hohen Umsatzraten handelt, wirken sich Störungen krankhafter Art gewöhnlich rasch an den Blutzellzahlen aus. Besonders schnell werden Granulozyten und Thrombozyten beeinträchtigt sein, weil diese Zellen im peripheren Blut nur eine verhältnismäßig kurze Lebensdauer haben; Granulozyten in der Größenordnung von Stunden, Thrombozyten in der Größenordnung einiger Tage. Die Erythrozyten haben normalerweise eine Lebensdauer von 100—120 Tagen; eine Störung der Erythropoese wird sich also am langsamsten im Vergleich mit den anderen Blutzellelementen auswirken. Trotzdem ist eine Verminderung der roten Blutkörperchen oder des Farbstoffgehaltes des Blutes, eine Anämie, die häufigste zu beobachtende Störung der Verhältnisse im Blut überhaupt.

Schema der normalen Granulopoese (Cronkite 1968)

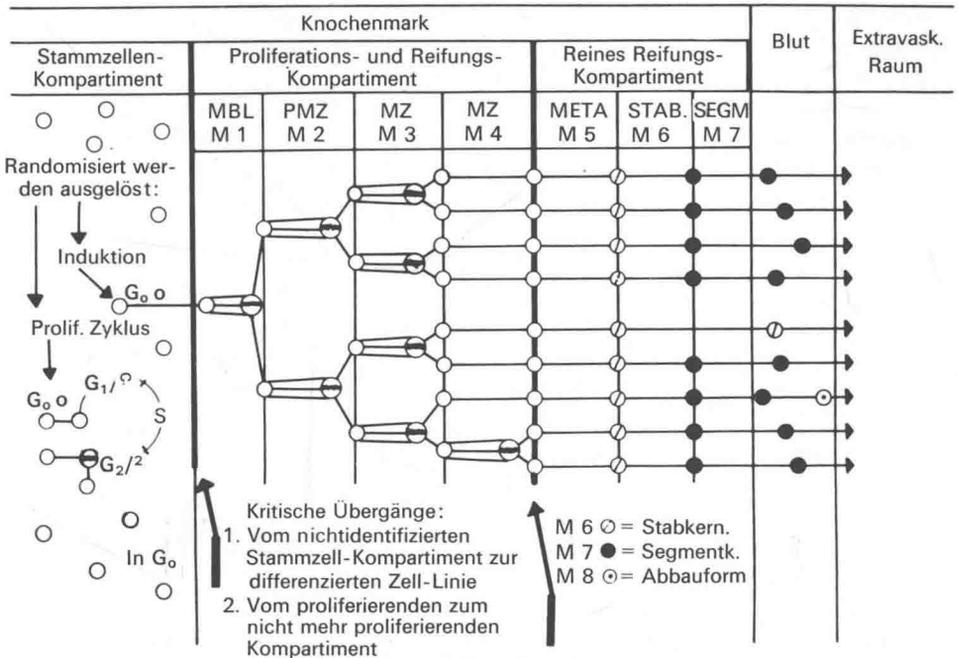


Abb. III: Schema der normalen Granulopoese im Knochenmark. Das Stammzellen-Kompartiment links ist nicht spezifisch für die Granulopoese, vielmehr kann es durch besondere Induktion Zellen in die Granulopoese, aber auch in die Erythropoese, die Megakaryozyten-Entwicklung und die Lymphopoese entwickeln lassen. Am Übergang vom Stammzell-Kompartiment zur ersten differenzierteren Zelle ist eine kritische, empfindliche Phase der Zellentwicklung gelegen. — An der zweiten kritischen Phase verfügt das System über eine Proliferationsreserve. — Im Bereich des reinen Reifungs-Kompartiments liegt im Knochenmark eine große Menge von ausgereiften Zellen als Funktionsreserve in Bereitschaft, die bei entsprechendem Reiz in die Blutbahn ausgeschwemmt wird und zur plötzlichen Erhöhung der Granulozytenzahl wie z. B. bei einer akuten Entzündung führen kann. So vermag auch ein vermehrtes Auswandern von Blutgranulozyten in den extravaskulären Raum wie z. B. bei der raschen Entwicklung einer eitrigen Entzündung ebenso rasch kompensiert zu werden.

Am Beispiel der Anämie lassen sich die Ursachen, welche das Symptom Anämie hervorrufen, im Prinzip darstellen. Wenn ein Organismus akut oder chronisch Blut verliert, so wird er diese Verluste durch eine Steigerung der Erythropoese zu kompensieren versuchen; dabei muß auch in vermehrtem Umfang Hämoglobin synthetisiert werden; mit den Blutverlusten verliert der Körper aber ein für die Hämoglobinsynthese entscheidendes Spurenelement, das Eisen, so daß infolge Eisenmangels die Hämoglobinsynthese unzureichend wird und der Blutfarbstoffgehalt unter der Norm bleibt, also eine Anämie entsteht.

Ein anderes, häufiges Beispiel einer Anämie findet man bei Kranken, die an einer chronischen Entzündung wie z. B. Gelenkrheumatismus leiden: Hierbei wird der Kreislauf des Spurenelementes Eisen, welches normalerweise immer wieder für den Aufbau neuer Hämoglobinmoleküle Verwendung findet, dadurch gestört, daß das retikuloendotheliale System, ein System von Abwehrzellen in vielen Geweben und Organen, Eisen an sich zieht und nicht zur Verfügung der Hämoglobinsynthese freigibt; dadurch wird die Hämoglobinsynthese pro Zeiteinheit vermindert, und wieder entwickelt sich als Resultat eine Verminderung des Hämoglobingehaltes des Blutes, eine Anämie.

Ein weiteres Beispiel, bei dem nicht eine Störung der Hämoglobinsynthese, sondern eine Störung der Zellproliferation im Knochenmark vorliegt, ist die perniziöse Anämie: Bei diesen Kranken fehlt es dem Körper an Vitamin B<sub>12</sub>; das Fehlen dieses Vitamins verursacht eine derartige Störung der Reifungsvorgänge der blutzellbildenden Elemente im Knochenmark, daß eine Produktion minderer Qualität an Erythrozyten ausgeschwemmt wird und ein Teil der minderwertigen Erythroblasten bereits im Knochenmark zugrunde geht (partiell ineffektive Erythropoese).

Ein 4. Beispiel sind die hämolytischen Anämien: Es gibt eine Vielzahl von angeborenen Anomalien der Erythrozyten oder von erworbenen Besonderheiten, besonders der Plasmaeiweißkörper, welche dazu führen, daß die Lebensdauer der Erythrozyten nicht wie üblich 100—120 Tage, sondern erheblich weniger, oftmals nur wenige Tage oder gar Stunden beträgt. Der gesteigerte Blutzerfall, streng genommen also die gesteigerte Destruktion von Erythrozyten, führt zu einem vermehrten Anfall von Metaboliten des Hämoglobins und damit im Regelfalle zu einem Ansteigen des unkonjugierten Bilirubins im Serum; dies verursacht einen Ikterus, und deshalb bezeichnet man die Erkrankungen dieser Gruppe auch als hämolytischen Ikterus. Durch eine gesteigerte Regeneration der Erythropoese läßt sich der gesteigerte Erythrozytenzerfall gewöhnlich bis zu einer bestimmten Grenze kompensieren, so daß womöglich die betroffenen Patienten nicht einmal wesentlich anämisch sind; im Regelfalle wird jedoch das Resultat einer stärkeren hämolytischen Erkrankung eine Anämie sein.

Ein 5. Beispiel sei eine Anämie, bei der entweder aus bekannten äußeren Gründen oder durch unbekanntes Pathogenese die Regeneration der Erythropoese vermindert ist und deshalb auch bei normaler Erythrozytenlebenszeit die Menge der pro Zeiteinheit im gesamten Knochenmark gebildeten Erythrozyten nicht ausreicht, um die gleichzeitige normale Destruktionsrate zu kompensieren. Hier spricht man von einer hyporegenerativen, bei höheren Schweregraden von aregenerativen Anämien, die ihre Ursache in einer Störung der Stammzellinduktion haben; in

Abb. I ist auf den kritischen Übergang vom Stammzellen-Kompartiment zum Proliferations- und Reifungs-Kompartiment der differenzierten Zell-Linie hingewiesen. Da es sich um eine Stammzellenstörung handelt, wird im Regelfalle nicht nur die Erythropoese, sondern gleichzeitig auch die Thrombopoese mit den Megakaryozyten sowie die Granulopoese, das Knochenmark als ganzes Organ also betroffen, und man spricht von einer aplastischen Anämie im Rahmen einer Panmyelopathie.

Von hieraus ist es nur noch ein kleiner gedanklicher Schritt zum letzten Beispiel einer Anämie, ebenfalls wieder bei einer das ganze Knochenmark betreffenden Erkrankung mit Ursprung im Stammzellen-Kompartiment: gemeint sind die leukämischen Erkrankungen. Wir haben heute davon auszugehen, daß bei allen leukämischen Erkrankungen, wenn auch in einem je nach Erkrankungstyp unterschiedlichen Umfang und Modus, das Stammzellen-Kompartiment entscheidend verändert ist, so daß an dem ersten kritischen Übergang bereits entscheidend veränderte Zellen in das oben erwähnte Paternostersystem der Proliferations- und Reifungsentwicklung aller blutzellbildenden Zell-Linien einströmen und dadurch offenbar sowohl die Zellbildung selbst als auch die selbststeuernden Regelungsmechanismen krankhaft verändert werden. Je nach Ausprägungsgrad der Erkrankung bleiben mehr oder weniger reduzierte Entwicklungsmöglichkeiten einer restlichen normalen Blutzellbildung und zugleich mehr oder weniger stark gesteigerte pathologische Blutzellbildung, so daß das vielgestaltige Spektrum der Krankheitsbilder der akuten und chronischen Hämoblastosen die Folge ist.

Aus diesen einführenden Bemerkungen wird verständlich, daß unter normalen Umständen ein feinreguliertes Gleichgewicht zwischen dem peripheren Blut und dem Knochenmark besteht. Das Ergebnis dieses Gleichgewichts ist die von uns als Normbereich angegebene normale Menge der verschiedenen Blutzelltypen. Eine krankhafte Veränderung, ein Abweichen von den Normbereichen, bedeutet eine Veränderung des Gleichgewichts zwischen Knochenmark und peripherem Blut, aus der sich jeweilige Schlußfolgerungen für die ärztliche Diagnose ergeben. Im Regelfalle wird man durch weitere Untersuchungen der Ursache der krankhaften Veränderung des peripheren Blutbildes nachgehen. Zusätzliche Untersuchungen an den Blutzellen selbst, klinisch-chemische Methoden wie z. B. Serumbilirubin, Bestimmung des Serumeisens und der Eisenbindungskapazität, Bestimmung bestimmter Enzymaktivitäten im Serum kommen ggf. ebenso in Frage wie proteinpathologische Untersuchungen am Serum oder sehr differenzierte enzymologische Experimente an isolierten Blutzellen. Mit Radioisotopen kann dem Resorptionsvermögen des Körpers für Vitamin B<sub>12</sub> und Eisen ebenso nachgegangen werden wie der Kinetik des Eisenstoffwechsels, der Erythrozyten sowie dem proliferativen Verhalten der Blutzellbildung selbst. Mit den Methoden der Zytogenetik wird untersucht, ob die Chromosomen der teilungsfähigen Blut- und Knochenmarkszellen womöglich für bestimmte Krankheiten spezifische oder anderweitig diagnostisch weiterweisende Anomalien haben.

Einen wichtigen Platz in der Diagnostik der gestörten Verhältnisse der Blutzellen im peripheren Blut nimmt die morphologische Knochenmarksuntersuchung ein. In der Hand des Erfahrenen ist sie oft entscheidend für die Diagnose einer fraglichen hämatologischen Situation und die sich hieraus ergebende Therapie.

Voraussetzung für die diagnostische Wertigkeit ist eine angemessene Technik bei der Materialgewinnung, auf die bewußt nur kurz eingegangen, sonst auf die weiterführenden Lehrbücher verwiesen wird.

Im folgenden Abschnitt werden die wichtigsten hämatologischen Untersuchungsmethoden quantitativer Art dargestellt. Unter Berücksichtigung der neueren Erkenntnisse über die Notwendigkeiten der Qualitätskontrolle im ärztlichen Laboratorium sind alle quantitativen Methoden so dargestellt, daß sie im Regelfalle als unabhängige Doppelbestimmungen ausgeführt werden. Gerade der Anfänger sollte sich diese Verfahrensweise zu eigen machen, damit er sich bewußt wird, wie anfällig quantitative Methoden gegenüber auch nur kleinen Variationen in der Handhabung von Material bei der Probenentnahme und Durchführung der Untersuchungen sind.

## Hämatologische Untersuchungsmethoden

### GEWINNUNG VON BLUT FÜR HÄMATOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Als Blutproben kommen Venenblut oder Kapillarblut in Frage. Kapillarblut wird an der Fingerbeere des Ringfingers oder Mittelfingers durch Einstechen mit einer sterilen Lanzette (Einmal-Lanzette) nach vorheriger Säuberung der Haut mit 70%igem Aethanol gewonnen. Der erste austretende Bluttröpfchen wird mit einem trockenen Tupfer abgewischt, die weiteren heraustretenden Bluttröpfchen werden für die durchzuführenden Untersuchungen verwendet. Ein stärkeres Herausdrücken von Bluttröpfchen sollte vermieden werden, weil hierdurch in größerem Umfang Gewebeflüssigkeit mit herausgedrückt werden kann und ein Volumenfehler bis zu 15 % auf diese Weise möglich ist.

Ein besserer Weg ist die Durchführung hämatologischer Untersuchungen an venösem Blut. Dazu wird das Venenblut mit dem Dikaliumsalz der Aethylen-diamintetraessigsäure (EDTA) ungerinnbar gemacht und in Kunststoffröhrchen aufgefangen. Solche bereits mit einer ausreichenden Menge EDTA in feinverteilter Form vorbeschickten Kunststoffröhrchen sind im Handel erhältlich. — Nach Punktion einer Vene läßt man Blut durch die Punktionskanüle frei in das vorher beschriftete Röhrchen fließen, verschließt das Röhrchen und mischt den Inhalt durch 5—10maliges behutsames Wenden, ohne daß Schaum entsteht. — Vor der Entnahme von Blutproben aus einem solchen Röhrchen muß dafür gesorgt werden, daß die Verteilung der Elemente wieder gleichmäßig geworden ist, was durch erneutes mehrfaches Wenden ohne Schaumbildung oder besser durch Verwendung eines handelsüblichen Rotationsmischers gelingt.

Bei jeder Art von Blutgewinnung ist besonders darauf zu achten, daß es nicht zur Gerinnelbildung in der Blutprobe kommt, weil derartige Proben nicht für Untersuchungen verwendet werden dürfen. Schaumbildung ruft Hämolyse der Erythrozyten hervor, auch hierdurch wird ein späteres Ergebnis verfälscht.

### HÄMATOKRIT

Beim erwachsenen Menschen beträgt die Blutmenge etwa  $\frac{1}{13}$  oder 6—8 % der Körpermasse. Von dieser Blutmenge sind beim weiblichen Organismus etwa 40

Volumen%, beim männlichen Organismus etwa 45 Volumen% Erythrozyten. Durch scharfes Zentrifugieren von ungeronnenem Blut läßt sich dieser „Volumenanteil der gepackten Erythrozyten“ oder Hämatokritwert ermitteln. Die gebräuchlichste Methode ist der Kapillarhämatokrit.

#### *Prinzip:*

Hochtouriges Zentrifugieren bringt die Erythrozyten nicht nur zur Sedimentation, sondern führt im Verlauf bestimmter Zeit zu einer so dichten Lagerung, daß das dazwischen noch befindliche Restplasma minimal ist.

#### *Material:*

Spezial-Hämatokritzentrifuge für Kapillaren;

dünnwandige heparinisierte Kapillarröhrchen, 75 mm lang, lichte Weite ca. 1 mm;

Plastikmaterial zum Verschluß der Kapillaren oder kleinflammiger Bunsenbrenner zum Zuschmelzen der Kapillaren;

Ablesegerät entweder separat oder eingebaut in Zentrifugenkopf.

#### *Ausführung:*

Als Blutprobe kommen EDTA-Venenblut oder Kapillarblut in Frage. Für jede Messung werden 2 Kapillaren zur Ausführung einer Doppelbestimmung benötigt. Die waagrecht gehaltenen Kapillarröhrchen füllen sich spontan bei Kontakt mit dem Blut. Sie sollen  $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$  gefüllt werden. Dann wird entweder an dem freigebliebenen Ende mit feiner Flamme zugeschmolzen oder an dem hierfür präparierten Ende mit Plastikmasse zugekittet. Zu achten ist auf genau waagrechtes Halten der Kapillare beim Verschließen; die flache Schale mit dem Plastikkitt muß genau senkrecht dagegen geführt werden, damit man einen dem späteren Spiegel der Erythrozytensäule parallelen Bodenverschluß bekommt. — Einsetzen der Kapillaren in den Teller der Zentrifuge, fester Verschluß der Zentrifuge und Zentrifugieren für 6 Minuten bei 12 000 Umdrehungen pro Minute. Dies entspricht bei ca.  $14\,000 \times G$  relativer Zentrifugalkraft einem Produkt von  $G \times t$  von etwa 80 000. Nach Anhalten der Zentrifuge Einstellen des Ablesegerätes auf den Boden der Erythrozytensäule, dann auf den Spiegel der Plasmasäule, dann auf den Spiegel der Erythrozytensäule. Ablesen des Volumenanteils der Erythrozytensäule. Aus den Meßwerten der 2 Kapillaren wird der Mittelwert gebildet.

#### *Reproduzierbarkeit:*

Das Ergebnis beider Einzelbestimmungen sollte um nicht mehr als 1 % Hämatokrit voneinander abweichen.

#### *Fehlerquellen:*

Auf die den Besonderheiten der Blutprobe innewohnenden Fehlerquellen ist bei der Gewinnung des Blutes für hämatologische Untersuchungen eingegangen worden. Spezifische Fehlerquellen sind:

Umdrehungszahl der Zentrifuge und Zentrifugierdauer nicht dem Standard entsprechend;

Ableseungenauigkeit z. B. durch zu geringe Füllung der Kapillare (weniger als  $\frac{2}{3}$ ), durch nicht spiegelparallelen Bodenverschluß der Kapillare;

durch inkompletten Bodenverschluß der Kapillare mit Verlust von ungewissen Teilen der Blutprobe.

*Normbereich:*

95 % aller hämatologisch gesunden Erwachsenen liegen  
beim weiblichen Geschlecht zwischen Hämatokrit 37—46 Volumen%;  
beim männlichen Geschlecht zwischen Hämatokrit 40—52 Volumen%.

Vereinbarungsgemäß bezeichnet man Meßwerte unter diesem Normbereich als „Anämie“, Werte über dem Normbereich als „Polyglobulie“.

## HÄMOGLOBINBESTIMMUNG

Das Chromoprotein Hämoglobin ist der wesentliche Inhaltsstoff der Erythrozyten. Im Körper befindet sich das Hämoglobin entweder in seiner oxydierten Form als Sauerstoff-Transportprotein von der Lunge zu den anderen Körpergeweben oder in seiner reduzierten Form, welche verstärkt den Transport von Kohlendioxyd von den Körpergeweben zur Lunge bewirkt. Durch den hohen Eisengehalt des Hämoglobins gewinnen die Erythrozyten ihr hohes spezifisches Gewicht von 1,089 bis 1,097. Etwa 70 % der ca. 4 g Eisen, die der Körper enthält, entfallen auf das Hämoglobin im zirkulierenden Blut, also grob gerechnet 0,5 g Eisen pro 1 Liter Blut unter Normalbedingungen.

Der Hämoglobingehalt des zirkulierenden Blutes ist eng korreliert zum Hämatokrit, da das Volumen der Erythrozyten von deren Füllungsgrad mit ihrem wesentlichen Inhaltsstoff abhängig ist. Die Messung des Hämoglobingehaltes erfolgt aber am hämolysierten Blut. Außerdem wird das natürliche, labile Hämoglobin in eine farbstabilere, denaturierte Verbindung umgewandelt, deren Konzentration pro 100 ml Blut gemessen wird.

*Prinzip:*

Hämoglobin wird durch das starke Oxydationsmittel Kaliumferricyanid zu Hämiglobin (Methämoglobin) oxydiert und dann mit Kaliumcyanid zu Hämiglobincyanid (Cyanmethämoglobin) übergeführt. Dieser Farbkomplex ist stabil und hat ein Absorptionsmaximum bei 530—550 nm.

*Material:*

Spektrallinien-Photometer mit Meßbereich einschließlich 530—550 nm;  
Kapillarpipette 0,02 ml (SAHLI-Pipette), geeicht;  
Dispensiergeräte oder Vollpipette für 5 ml, geeicht;  
Transformationslösung (modifizierte DRABKINSche Lösung):

a) Kaliumhexacyanoferrat (III)	200 mg
Kaliumcyanid	50 mg
Kaliumdihydrogenphosphat	140 mg
Aqua bidest.	ad 1 000 ml

b) Detergens-Lösung

c) Hämiglobincyanid-Standard

(Reagenziensätze für Transformationslösung und Standard sind beim Handel erhältlich.)

*Ausführung:*

Als Blutprobe kommen EDTA-Venenblut oder Kapillarblut in Frage. Für jede Messung werden 2 Ansätze mit je 1 Pipette ausgeführt. In der SAHLI-Pipette wird 0,02 ml Blut luftblasenfrei aufgezogen. Blutreste außen an der Pipette werden sorgfältig entfernt, der Inhalt der Pipette wird in 5 ml Transformationslösung entleert, gut durchmischt, dann der Reaktionsablauf abgewartet. Je nach Reagenziensatz beträgt die Reaktionszeit 3—30 Minuten, die entsprechenden Spezialanweisungen sind zu beachten. Photometrische Messung der Extinktion z. B. mit Filter Hg 546 nm gegen Extinktion der Transformationslösung oder Aqua bidest. Errechnung des Hämoglobingehaltes von 100 ml der untersuchten Blutprobe unter Benutzung der jeweils gültigen Umrechnungsfaktoren bzw. Tabellen oder Nomogramme und unter Benutzung der Eichkurve mit Hämiglobincyanid-Standard. — Errechnung des Mittelwertes aus den beiden Einzelbestimmungen als qualifiziertes Untersuchungsergebnis.

*Reproduzierbarkeit:*

Das Ergebnis beider Einzelbestimmungen sollte praktisch nicht um mehr als 0,4 g/100 ml (g%) voneinander abweichen; die Reproduzierbarkeit wird mit weniger als  $\pm 2\%$  angegeben.

*Fehlerquellen:*

Ungeeichte oder beschädigte SAHLI-Pipetten, deren Füllungsvolumen von 0,02 ml abweicht;

dieser Pipettenfehler trifft auch zu für nicht vollständig trockene Pipetten;

Pipettierfehler sind Aufziehen des Blutes mit Luftblasen bzw. inkorrekte Endfüllung der Pipette;

Blutreste außen an der Pipette lösen sich bei Einfüllen natürlich auch in der Transformationslösung;

unvollständige Entleerung der Blutprobe in die Transformationslösung;

Nichtbeachtung der Reaktionszeiten bzw. Zeitdauer der Stabilität des Reaktionsproduktes;

Fehler bei Vorbereitung und Handhabung von Küvetten und photoelektrischem Meßinstrument;

Nichterkennen von Trübungen im Ansatz, die unabhängig vom Hämoglobingehalt die Extinktion beeinflussen;

Fehler bei der Berechnung der Ergebnisse.

*Normbereich:*

95 % aller hämatologisch gesunden Erwachsenen haben

beim weiblichen Geschlecht 12,0—16,0 g Hb/100 ml;

beim männlichen Geschlecht 14,0—18,0 g Hb/100 ml.

Meßwerte außerhalb dieses Normbereichs werden mit „Anämie“ oder „Polyglobulie“ bezeichnet, je nachdem ob sie darunter oder darüber liegen.

### *Andere Bestimmungsmethoden für Hämoglobin:*

Die bis etwa 1960—1965 übliche Farbstabhämometermethode, die auf der Basis des salzsauren Hämamins beruht (SAHLI-Methode), ist heute nicht mehr als Meßmethode akzeptabel. Es handelt sich um eine mit einer Reproduzierbarkeit von etwa  $\pm 10\%$  arbeitende Farbvergleichsmethode, die nur eine Abschätzung, nicht aber eine Messung des Hämoglobingehaltes zuläßt. Hingegen sind photoelektrische Messungen von Oxyhämoglobin oder mit Natrium-hyposulfat reduziertem Hämoglobin möglich, wengleich auch nicht als Routineverfahren gebräuchlich.

### ERYTHROZYTENZAHL

Die Erythrozyten sind kernlose, mit Hämoglobin gefüllte, bikonkave und fast kreisrunde Scheibchen, die einen mittleren Durchmesser von  $7,2\ \mu\text{m}$ , eine mittlere Dicke von  $2,2\ \mu\text{m}$  und ein mittleres Volumen von  $88\ \mu\text{m}^3$  haben. Die besondere Form der Erythrozyten — von der Schmalseite her im Schnitt wie eine Hantel oder ein Bisquit erscheinend — garantiert eine optimal kurze Entfernung von der Zelloberfläche bis zum zentralst gelegenen Hämoglobinmolekül (weniger als  $1,8\ \mu\text{m}$ ) als Voraussetzung für die rasche Passage von Sauerstoff und Kohlendioxyd beim Gasaustausch in der Lunge bzw. in den anderen Körpergeweben.

Die Erythrozytenzahl pro Volumeneinheit Blut ist ebenso wie der Hämoglobingehalt korreliert zum Hämatokrit; diese Korrelation ist jedoch für die Erythrozytenzahl nicht so eng wie für den Hämoglobingehalt, weil durch unterschiedliche Größe bzw. unterschiedlichen Hämoglobingehalt der Erythrozyten eine größere Variabilität der Korrelation hervorgerufen wird.

Die Zählung der Erythrozyten wird in zunehmendem Umfang mit elektronisch arbeitenden Partikelzählgeräten ausgeführt, die besser reproduzierbare Ergebnisse unter rationelleren Arbeitsbedingungen liefern. Verschiedene Verfahren und Apparate sind auf dem Markt; Einzelheiten sind der eingangs aufgeführten Literatur zu entnehmen.

Bei der klassischen Erythrozytenzählung mit der Zählkammermethode (Hämozytometer-Methode) erfolgt die Auszählung einer verdünnten Blutprobe unter dem Mikroskop.

#### *Prinzip:*

Die zu untersuchende Blutprobe wird mit dem isotonen HAYEMS-Reagenz verdünnt und so stabilisiert, daß die Erythrozyten in der Zählkammer voneinander getrennt liegen. So kann eine repräsentative Probe hiervon in einem bestimmten Volumen einer Zählkammer ausgezählt werden.

#### *Material:*

Hellfeld-Mikroskop mit Objektiv  $40\times$ ;  
Zählkammer (Hämozytometer), z. B. NEUBAUER;  
Mischpipetten für Erythrozytenzählung (rote Perle), geeicht;  
HAYEMS-Reagenz im Blockschälchen:

Quecksilber-(II)-chlorid	0,25 g
Natriumsulfat	2,5 g
Natriumchlorid	0,5 g
Aqua dest.	ad 100,0 ml