

Der Erythrozyt – Morphologisch wichtiger, als man glaubt

Xtra Vol. 18.2 | 2014 | Nr. 03

Entstehung

Erythrozyten entwickeln sich in insgesamt vier Teilungsschritten aus der multipotenten Stammzelle des Knochenmarks. Dieser Prozess dauert im ganzen 8 Tage und wird Erythropoese (griechisch: erythros – rot, poiesis – Schöpfung) genannt. Aus der *frühen multipotenten hämatopoetischen Stammzelle* entwickeln sich die Progenitoren *burst-forming-unit (BFU-E)* und später *colony-forming-unit (CFU-E)*. Morphologisch entsprechen sie undifferenzierten Blasten, Immunphänotypisch zeigen sie Positivität für den Stammzellmarker CD34. Die erste mittels Pappenheimfärbung identifizierbare Zelle der Erythropoese ist der **Proerythroblast**. Dieser erscheint zytologisch als Blast und hat ein tief basophiles Zytoplasma mit perinukleärer Aufhellungszone, die dem Golgi-Apparat entspricht (Abb. 1a). In der Immunphänotypisierung zeigt sich eine Positivität für CD71 (Transferrinrezeptor) und Glykophorin A (CD235A) als linienspezifische Marker. Im Zuge der Differenzierung verkleinern sich Zelle und Zellkern, das Chromatin verdichtet sich. Mit der Synthese des Hämoglobins und dem Verlust zytoplasmatischer RNA verändert sich die Zytoplasmafarbe von basophil zunächst in eine Mischfarbe (polychromatisch) und schließlich zu rot (orthochromatisch). Die kernhaltigen Entwicklungsstufen nach dem Proerythroblasten werden **Erythroblasten** genannt (Abb. 1, b – d), wobei die Unterscheidung anhand der Zytoplasmafarbe in basophil, polychromatisch und orthochromatisch vorgenommen wird.

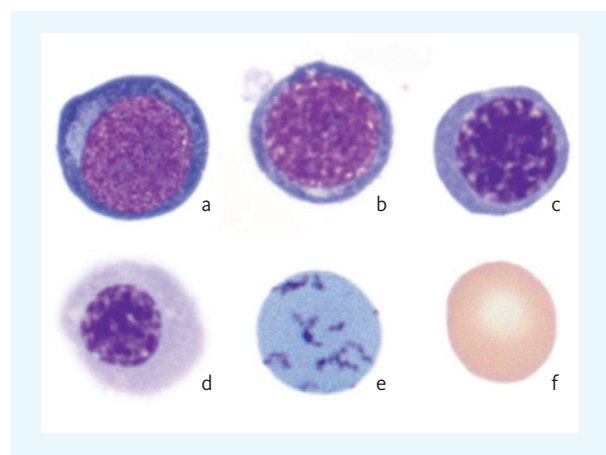


Abb. 1 Entwicklung vom Proerythroblasten bis zum reifen Erythrozyten. a, b, c, d, f = Pappenheimfärbung, e = Brillantkresylblaufärbung, a) Proerythroblast, b) basophiler Erythroblast (E), c) polychromatischer E, d) orthochromatischer E, e) Retikulozyt, Brillantkresylblaufärbung, f) Erythrozyt
Quelle: Zucker-Franklin D et al. (1988): Atlas of blood cells, Fischer Verlag Stuttgart, 2nd ed.
Copyright Fotos: Universitätsklinikum Aachen

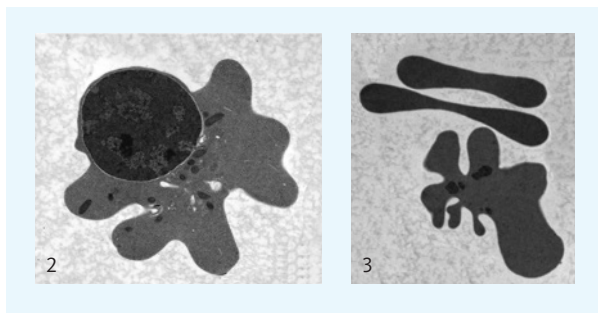


Abb. 2 Orthochromatischer Erythroblast bei der Kernausstossung.
Abb. 3 Zwei unterschiedlich große Ery, unten ein Retikulozyt.
Mit freundlicher Genehmigung von Dr. M. Hoss, Transmissionselektronenmikroskopie Uniklinik Aachen, Institut Pathologie.

Die kernhaltigen Entwicklungsstufen nach dem Proerythroblasten werden **Erythroblasten** genannt (Abb. 1, b – d), wobei die Unterscheidung anhand der Zytoplasmafarbe in basophil, polychromatisch und orthochromatisch vorgenommen wird.

Die Kernform der Erythroblasten ist physiologischerweise drehrund, das Kernchromatin verdichtet, schollig. Der orthochromatische Erythroblast weist den größten Anteil an Hämoglobin unter den Erythroblasten auf. Auf dieser Reifungsstufe erfolgt die Kernausstoßung (Abb. 2). Die erste kernlose Reifungsstufe der Erythropoese heißt **Retikulozyt** (Abb.1e), der ein RNA-haltiges Netz, die Substantia reticulofilamentosa enthält, die nur mit einer Supravitalfärbung zur Darstellung kommt. Je unreifer der Retikulozyt, desto größer ist der Anteil an Substantia reticulofilamentosa. Durch weitere Reifung entsteht innerhalb von vier Tagen der **Erythrozyten** (Abb.1f), der im Zytoplasma nur noch Hämoglobin enthält, das dem Sauerstofftransport dient. Erythrozyten haben normalerweise einen Durchmesser von 7–8 µm, weisen eine bikonkave Form auf und zeigen in der Pappenheimfärbung eine typische zentrale Aufhellungszone, die dem hämoglobinfreien Anteil entspricht.

Physiologie

Als kernlose, bikonkave Zellen sind Erythrozyten enorm verformbar und können dadurch selbst die kleinen Zwischenräume der Endothelien passieren, welche z. B. die venösen Sinus der roten Pulpa der Milz auskleiden. Im Zuge der Milzpassage werden Kernreste und Eisengranula entfernt. Bei einer physiologischen Größe von 7–8 µm befinden sich 4–5 Mio Erythrozyten in einem Mikroliter Blut. Während der Lebenszeit von 120 Tagen legt der Erythrozyt ca. 500 km im Blutkreislauf zurück. Seine Energie gewinnt er aus Glykolyse, bei der ATP als Stoffwechselprodukt gebildet wird. Die Erythrozytenmembran, bestehend aus einer Doppellipidschicht, wird durch ein Netzwerk aus Proteinen gestützt, die wie eine gespannte Feder die Form des Erythrozyten stabilisieren. Bei neutralem pH-Wert sorgt eine Elektrolytpumpe für ausgeglichene osmotische Verhältnisse. Seine rote Farbe erhält der Erythrozyt durch das Hämoglobin. Erythrozyten benötigen zur Hämoglobinsynthese Eisen, welches mit der Nahrung aufgenommen wird. Zusätzlich werden Vitamin B12, Folsäure, aber auch Vitamin B6 und Spuren von Kobalt und Mangan benötigt. Der Abbau der Erythrozyten erfolgt nach 120 Tagen durch die Makrophagen der Milz und des RES.

Das Hämoglobinmolekül, ein Chromoprotein, das der Sauerstoffbindung dient, besteht aus den zwei Komponenten: Häm und Globin. Die Hämoglobinsynthese beginnt in den basophilen Erythroblasten und erfolgt in den Mitochondrien. Das zur Hämoglobinbildung erforderliche Eisen wird mit der Nahrung aufgenommen, an Transferrin gebunden und gelangt vom Darm zu den Erythroblasten im Knochenmark, wo es in den Mitochondrien an das Protoporphyrin IX gebunden wird. Aus der Verbindung Eisen und Protoporphyrin IX entsteht das Häm. Jede Hämgruppe kann ein Sauerstoffmolekül binden. Die Synthese der Globinketten erfolgt an den Ribosomen. Das Hämoglobin des Erwachsenen, HbA1 verfügt über zwei α- und zwei β-Ketten. Vier Hämgruppen, gebunden an vier Globinketten, bilden ein Hämoglobinmolekül.

Stimulation

Die Bildung der Erythrozyten im Knochenmark wird durch Erythropoetin, das in der Niere gebildet wird, gesteuert. Die Synthese von Erythropoetin wird durch eine verminderte Sauerstoffsättigung (Hypoxie) angeregt. Auf den Stammellen der Erythropoese (BFU-E) befinden sich Rezeptoren, die das Erythropoetin binden und durch Stimulation der Januskinase eine Proliferation der Erythropoese bewirken und eine verstärkte Zellteilung bedingen.

Pathologische Veränderungen

Anämie

Eine Anämie liegt vor, wenn der Hämoglobinwert* unterhalb des Normbereiches gemessen wird. Diese entsteht, wenn das Gleichgewicht zwischen Erythrozytenbildung und Erythrozytenabbau gestört ist. Ursächlich können zwei pathogenetische Prinzipien in Frage kommen: Entweder eine verminderte Erythrozytenbildung bei normalem Verbrauch, z. B. bei Substratmangel von Vitamin B12 oder Folsäure, oder eine verkürzte Lebensdauer der Erythrozyten bei normaler Bildung, z. B. bei angeborenen Defekten der Erythrozytenmembran (kongenitale Sphärozytose)

Polyglobulie

Im Gegensatz zur Anämie finden sich bei der Polyglobulie zu viele Erythrozyten im Blut. Dies kann reaktiven Ursprungs sein wie z. B. bei einer Lungenerkrankung oder durch einen Aufenthalt in großer Höhe verursacht werden. Durch die Hypoxie im Gewebe erfolgt eine vermehrte Erythropoetinausschüttung, die sich stimulierend auf die Erythropoese auswirkt. In anderen Fällen kann eine neoplastische Ursache für die Erythrozytenvermehrung in Form einer Polyzythämie vorliegen. Der neoplastisch gesteigerten Erythropoese liegt eine Mutation im JAK2-Gen zugrunde. Infolge dieser Aberration werden Erythropoetin-unabhängig permanent Erythrozyten produziert. Meist liegen zusätzlich eine Neutrophilie und Thrombozytose vor. Die Diagnose wird molekulargenetisch durch den Nachweis der JAK2-Mutation bei gleichzeitiger Verminderung des Erythropoetins im Serum gestellt.

	Hb-Konzentration / g/L
Männer (>15 Jahre)	<130
Frauen (>15 Jahre) nicht schwanger	<120
Frauen (schwanger)	<110
Kinder (6 Monate – 6 Jahre)	<110
Kinder (6 – 14 Jahre)	<120

* Grenzwerte zur Anämiedefinition nach WHO (World Health Organization)
Quelle: **Blanc B et al.** (1968): *Nutritional anaemias. Report of a WHO scientific group. World Health Organ Tech Rep Ser.*; 405:5 – 37.

Anämiediagnostik

Für die Klassifizierung einer Anämie sind mehrere Laborparameter essentiell:

1. Erythrozytenindizes MCV, MCH
2. Retikulozytenproduktionsindex (RPI)
3. Hämolyseparameter

Die Erythrozytenindizes (MCH = mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt und MCV= mittleres korpuskuläres Volumen), Rechenparameter des kleinen Blutbildes, geben wichtige Vorabinformationen zu Größe und Farbstoffanteil der Erythrozyten. Diese erlauben eine Unterteilung der Anämien in hypochrom /mikrozytär, normochrom /normozytär, hyperchrom /makrozytär. Der MCHC, der die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration in 100 mL Erythrozyten bezeichnet, ist ein sehr konstanter Wert. Im Falle der angeborenen Störung der Erythrozytenmembran bei kongenitaler Sphärozytose kann er pathologisch erhöht sein. Das ist ein wichtiges Erkennungsmerkmal einer Kugelzellenanämie.

Red cell distribution width (RDW) ist ein Parameter, der bei jeder Blutbildmessung automatisch ermittelt wird. Dabei handelt es sich um die Standardabweichung des MCV. Das ist ein Maß für die Größenvarianz der Erythrozyten, vergleichbar der Anisozytose im Ausstrich. Besonders hohe RDW-Werte (>18%) findet man beispielsweise bei Eisenmangelanämie.

Der Retikulozytenproduktionsindex (RPI) wird aus der Retikulozytenzahl, dem Hämatokritwert und der hämatokritabhängigen Verweildauer der Retikulozyten im Blut (Shift) berechnet. Er stellt einen wertvollen Parameter dar, der geeignet ist, die Regenerationsfähigkeit der Erythropoese im Knochenmark zu bewerten. Der RPI kann somit zwischen hypo- und hyperregenerativen Formen einer Anämie unterscheiden. Ein RPI > 2 spricht für eine adäquate Regeneration (hyperregenerativ), ein RPI < 2 für eine ungenügende Neubildung (hyporegenerativ) der Erythropoese bei einer Anämie.

Hämolyseparameter LDH, Haptoglobin, indirektes Bilirubin eignen sich zur Feststellung eines beschleunigten Erythrozytenabbaus im Sinne einer gesteigerten Hämolyse. Zusätzlich ist der direkte Coombstest zum Nachweis autoimmunologischer Formen (AIHA) erforderlich.

Erythrozytenmorphologie

Ein Teil der Anämien geht mit morphologischen Veränderungen der Erythrozyten einher. Daher sollte zur Abklärung einer Anämie neben den oben genannten Laborparametern immer ein Pappenheim-gefärbter Blutausstrich angefertigt und im Mikroskop angesehen werden.

Eine qualifizierte Erythrozytenbeurteilung umfasst sechs Merkmale, die Bewertung der *Größe, Form* und *Farbe* sowie das *Vorkommen von Erythrozytenaggregation, Einschlüssen und roten Vorstufen*.



Das Vorhandensein von Erythroblasten im peripheren Blut Erwachsener ist immer pathologisch, da diese durch die Mark-Blut-Schranke normalerweise im Knochenmark zurückgehalten werden.

Eine starke Variabilität der Erythrozytengröße nennt man eine *Anisozytose*. Die Erythrozytengröße wird im Vergleich zum Kern des kleinen Lymphozyten beurteilt. Abb. 4 zeigt Mikrozyten wie sie bei Eisenmangelanämie und Thalassämien vorkommen.

Die Erythrozytenfarbe ist normalerweise in der Pappenheimfärbung rosa. Eine bläuliche Anfärbung wird als *Polychromasie* bezeichnet, wie die Abb. 5 zeigt. Dies ist ein unspezifisches Merkmal, das u. a. bei Retikulozytose vorkommt.

Die physiologische Form der Erythrozyten im Ausstrich ist rund. Eine Vielzahl von Erkrankungen geht mit Veränderungen der Erythrozytenform einher. Ein breites Formenspektrum im Ausstrich wird als *Poikilozytose* bezeichnet. Besonders hervorzuheben sind *Fragmentozyten*, wie in Abb. 6 und Abb. 9 dargestellt. Definitionsgemäß zeigen sie eine intakte Konvex- und eine beschädigte Konkavseite. Dadurch resultiert die typische Helmform. Werden im Ausstrich Fragmentozyten gefunden, können diese Ausdruck einer mechanischen Schädigung durch Thrombosierung der Endstrombahn, z. B. bei mikroangiopathischer hämolytischer Anämie sein. Der quantitative Anteil ist dabei entscheidend. Der Signifikanzbereich liegt bei 1 Fragmentozyt pro Gesichtsfeld (Objektiv 100). Das entspricht 5‰ (0,5%). Liegt gleichzeitig eine relevante Thrombopenie vor, kann es sich um einen Notfall handeln, über den der Einsender umgehend telefonisch informiert werden muss. Eine rasch einsetzende Therapie kann im Falle einer thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura lebensrettend sein.

Einschlüsse in Erythrozyten können ein wichtiger Hinweis auf Störungen der Erythropoese sein, oder auf eine Milzentfernung oder einen Parasiten-

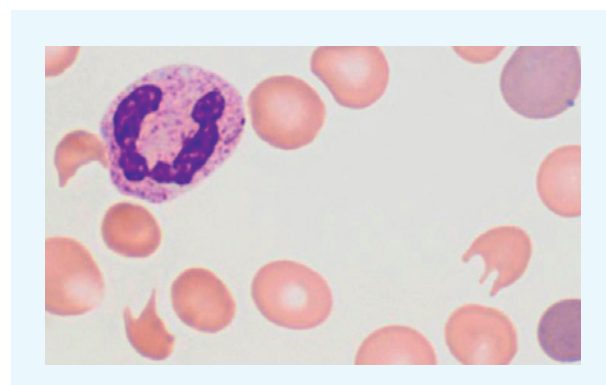


Abb. 9 Thrombotische Mikroangiopathie, drei Fragmentozyten, links ein Segmentkerniger,
Copyright: Universitätsklinikum Aachen.

befall hinweisen. Sie müssen von Artefakten, z. B. aufgelagerten Thrombozyten abgegrenzt werden. Jolly-Körperchen, wie in Abb. 7 dargestellt, sind runde Kernreste von brauner Farbe, assoziiert mit einem Zustand nach Splenektomie.

Die Bewertung der Erythrozytenlagerung erfolgt in einem Ausstrichbereich, indem die Erythrozyten nicht zu dicht liegen. Auffällig sind Säulen- oder stockartige Zusammenlagerung »wie aus der Hand auf eine flache Unterlage ausgeschüttete Münzen«, die man als Geldrollenbildung (Abb. 8) bezeichnet. Vorkommen: Hypergammaglobulinämie, Hyperfibrinogenämie.

Zusammenfassung

Störungen der Erythrozytenbildung oder verkürzte Lebenszeit gehen häufig mit Veränderungen der Erythrozytenmorphologie einher. Deshalb ist es unverzichtbar, bei Vorliegen einer Anämie die Erythrozytenmorphologie im Blutausstrich zu beurteilen. Damit können bei einem Teil der Anämien konkrete Hinweise für deren Pathogenese gewonnen werden.

Literatur

1. Hoffbrandt AV et al. (2002): *Grundkurs Hämatologie*. Thieme Verlag, Blackwell-Verlag, Wien.
2. Diggs LW, Sturm D, MS A Bell. (2005): *The morphology of human blood cells*. 7th ed., Abbott.
3. Fuchs R, Staib P, Brümmendorf T. (2014): *Manual Hämatologie*. 24. Auflage, Nora Verlag.
4. Löffler H, Rastetter J, Haferlach T. (2004): *Atlas der klinischen Hämatologie*. 6. Auflage, Springer-Verlag Heidelberg.

Autoren



Reinhild Herwartz
Uniklinik Aachen
Klinik für Hämatologie, Onkologie,
Hämostaseologie und Stammzelltransplantation



Prof. Dr. med. Roland Fuchs
Uniklinik Aachen
Klinik für Hämatologie, Onkologie,
Hämostaseologie und Stammzelltransplantation