

ISSN 0341-5929

# PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION

**MEDIZIN**

SERIE 5 · NUMMER 10 · 1980

FILM D 1390

*Sézary-Zellen und autologe  
Rosettenbildung im Supravitalpräparat*



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

*Angaben zum Film:*

Tonfilm, (Komm., dt. od. engl.), 16 mm, schwarzweiß, 90 m, 8 1/2 min (24 B/s). Hergestellt 1979/1980, veröffentlicht 1980.

Der Film wurde aus vorhandenem Material zusammengestellt und ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt.

Veröffentlichung aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin, R. SCHÜTZ, und der Dermatologischen Klinik der Freien Universität Berlin am Klinikum Steglitz, Dr. R. BAUER. Bearbeitet und veröffentlicht durch das Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K.-H. HOFLING; Aufnahme und Schnitt: R. SCHÜTZ, Berlin. Der Film entstand mit Unterstützung durch das Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen.

*Züiterform:*

SCHÜTZ, R., und R. BAUER: Sézary-Zellen und autologe Rosettenbildung im Supravitalpräparat. Film D 1390 des IWF, Göttingen 1980. Publikation von R. SCHÜTZ und R. BAUER, Publ. Wiss. Film., Sekt. Med., Ser. 5, Nr. 10/D 1390 (1980), 14 S.

*Anschrift der Verfasser der Publikation:*

R. SCHÜTZ, Freie Universität Berlin, FB 1, WE 2, Abt. Blut-Physiologie, Arnimallee 22, D-1000 Berlin 33.

Dr. R. BAUER, Freie Universität Berlin, FB 2, WE 7, Dermatologie, Hindenburgdamm 30, D-1000 Berlin 45.

---

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion MEDIZIN

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Sektion PSYCHOLOGIE · PÄDAGOGIK

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

NATURWISSENSCHAFTEN

Herausgeber: H.-K. GALLE · Schriftleitung: E. BETZ, I. SIMON

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN sind die schriftliche Ergänzung zu den Filmen des Instituts für den Wissenschaftlichen Film und der Encyclopaedia Cinematographica. Sie enthalten jeweils eine Einführung in das im Film behandelte Thema und die Begleitumstände des Films sowie eine genaue Beschreibung des Filminhalts. Film und Publikation zusammen stellen die wissenschaftliche Veröffentlichung dar.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN werden in deutscher, englischer oder französischer Sprache herausgegeben. Sie erscheinen als Einzelhefte, die in den fachlichen Sektionen zu Serien zusammengefaßt und im Abonnement bezogen werden können. Jede Serie besteht aus mehreren Lieferungen.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film  
Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen  
Tel. (0551) 21034

FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

REGINA SCHÜTZ und RALF BAUER, Berlin:

Film D 1390

**Sézary-Zellen und autologe Rosettenbildung im  
Supravitalpräparat**

Verfasser der Publikation: REGINA SCHÜTZ und RALF BAUER

Mit 6 Abbildungen

*Inhalt des Films:*

**Sézary-Zellen und autologe Rosettenbildung im Supravitalpräparat.** Es werden die morphologischen Besonderheiten der für das Sézary-Syndrom charakteristischen, atypischen Lymphozyten sowie deren dynamisches und funktionelles Verhalten im Supravitalpräparat untersucht.

Auffälligstes Ergebnis dieser Untersuchungen sind Interaktionen zwischen atypischen Lymphozyten, den Sézary-Zellen, und autologen Erythrozyten. Es kommt schließlich zu Rosettenbildungen um ruhende und zu Clusterbildungen an wandernden Sézary-Zellen. Diese Interaktionen werden u. a. als Hinweis dafür gewertet, daß die atypischen Lymphozyten beim Sézary-Syndrom Membranmarker wie Thymozyten tragen.

*Summary of the Film:*

**Sézary Cells and Autologic Formation of Rosettes im Supravital Preparation.** The morphological criteria of the atypical lymphocytes characteristic of the Sézary syndrome are investigated as well as their dynamic and functional behaviour in the supravital preparation. The most remarkable result of these studies are interactions between these atypical lymphocytes – the Sézary cells – and autologous erythrocytes. Finally, rosettes are built around resting, and clusters at wandering Sézary cells. These interactions are estimated, among other things, as a hint that the atypical lymphocytes in the Sézary syndrome carry membrane markers like thymocytes.

*Résumé du Film:*

**Les cellules Sézary et la formation des rosettes autologues en préparation supravitale.** Les particularités morphologiques des lymphocytes atypiques étant caractéristiques pour le syndrome de Sézary ainsi que leur réaction dynamique et fonctionnelle sont analysées en préparation supravitale.

Le résultat le plus remarquable de ces analyses sont des interactions parmi ces lymphocytes atypiques, les cellules Sézary, et les érythrocytes autologues. Finalement des rosacées autour

les cellules Sézary flottantes et des façonnements de clusters auprès de celles-ci ont lieu. Entre autres choses ces interactions sont considérées comme indication que chez le syndrom de Sézary les lymphocytes atypiques ont des marqueur de membranes comme les thymocytes.

### Allgemeine Vorbemerkungen

Von SÉZARY und BOUVRAIN ([7]) wurde 1938 ein Fall mit generalisierter Erythrodermie veröffentlicht, bei dem gleichzeitig große atypische mononukleäre Zellen auftraten, sowohl im Blut als auch in Hautinfiltraten. Diese für das Krankheitsbild Sézary-Syndrom typischen, aber nicht pathognomonischen Zellen werden Sézary-Zellen genannt. Sie sind in neuerer Zeit durch elektronenmikroskopische Untersuchungen als Lymphozyten diagnostiziert worden (LUTZNER u. JORDAN [4]). Später wurde dann nachgewiesen, daß es sich um T-Lymphozyten handelt (LUTZNER et al. [5]). Bei entsprechendem klinischen Verdacht ist die Diagnose bislang histologisch und elektronenoptisch, sowie immunologisch und durch den Nachweis von Sézary-Zellen im gefärbten Blutaussstrich erhärtet worden. Dabei haben alle Methoden zum Ziel, die für das Krankheitsbild typischen Sézary-Zellen nachzuweisen. Das morphologische Charakteristikum dieser Zellen sind faltige, streifig-tubuläre bzw. cerebriforme Kernstrukturen, die bislang nur elektronenoptisch deutlich sichtbar gemacht wurden (POLLIACK et al. [6]).

Unser Interesse galt dem dynamischen und funktionellen Verhalten dieser atypischen Lymphozyten und der Frage, wie sich die morphologischen Kriterien der Kerne in vitro darstellen. Wir haben deshalb vitalmikroskopische Untersuchungen des Blutes und in Hautinfiltraten durchgeführt und dazu das standardisierte Supravitalpräparat nach ENGEL ([8], [9]) benutzt. Diese Methode gestattet es, bei minimalem methodischen und zeitlichen Aufwand, überlebende Leukozyten unter optimalen Bedingungen kontinuierlich bis zum Zelltod zu verfolgen.

### Methode: Supravitalpräparat nach ENGEL

Zur Herstellung der Präparate wird ein Tropfen Blut aus der Fingerbeere mit einem Deckglas abgehoben und auf einen reinweißen, alkalifreien Objektträger gelegt, der fett- und staubfrei sein soll. Der Blutropfen muß so klein sein, daß er sich gerade eben bis an die Ränder des Deckglases gleichmäßig ausbreitet. Der Präparatspalt ist dann etwa 3 µm hoch, in dem alle Blutzellen einzeln nebeneinander liegen. Um das Austrocknen der Präparate zu verhindern, werden sie allseitig mit erwärmtem Paraffin abgedichtet. Die Untersuchungen erfolgen im Phasenkontrastmikroskop bei Zimmertemperatur.

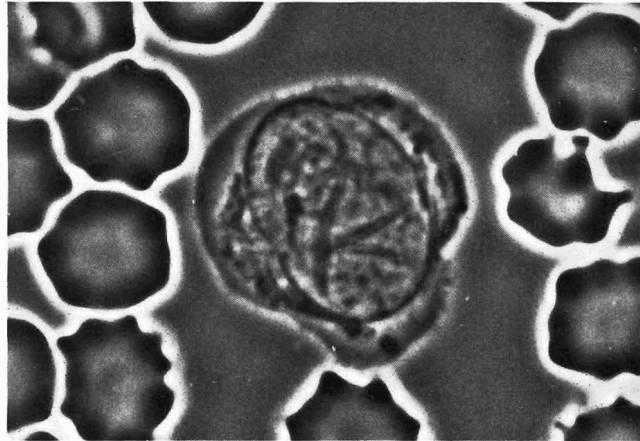
Während die Erythrozyten in dem Präparatspalt von etwa 3 µm unbehelligt bleiben, werden die Leukozyten bei der Präparatherstellung flach ausgebreitet. Durch diese Pression wird die Aktivität der weißen Blutzellen stimuliert; nach relativ kurzer Anpassungszeit wandern sie wie in vivo nach der Emigration im Gewebe (ENGEL [3]).

### Zur Entstehung des Films

In den überlebenden Leukozyten des Supravitalpräparats werden alle Zellstrukturen durch das Phasenkontrastverfahren sehr viel deutlicher dargestellt als in Zellen gefärbter Blutausstriche. Deshalb fallen die atypischen Lymphozyten des Sézary-Syndroms mit ihren bizarren, streifig-tubulären Kernstrukturen hier besonders auf und sind leicht als Sézary-Zellen zu identifizieren.

Neben den morphologischen Merkmalen der verschiedenen Leukozytenarten erleichtern zusätzliche Kriterien sowohl dynamischer als auch funktioneller Art die Identifizierung der Zellen im Supravitalpräparat. Anfänglich, gleich nach der Präparatherstellung, sind alle Zellen noch rund und sessil, so auch die Sézary-Zellen. Ihr Zytoplasma ist glattrandig, dunkel und enthält nur wenige große Granula. Es dominieren und fallen besonders große Zellen auf, mit einem Durchmesser um  $18\ \mu\text{m}$ , deren Kernstrukturen abnorm gefaltet bzw. streifig-tubulär sind (Abb. 1). Daneben

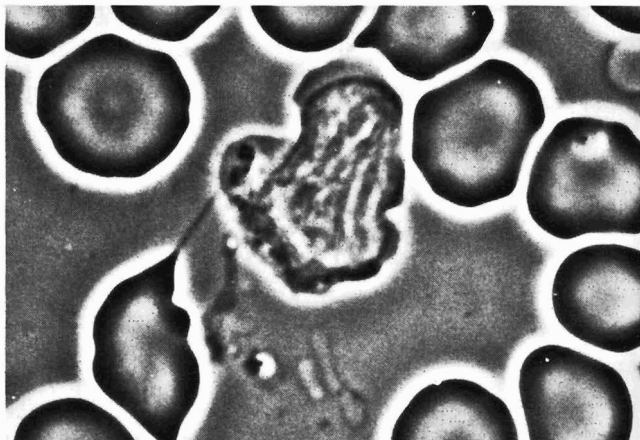
Abb. 1. Große Sézary-Zelle 60 min nach Präparatherstellung. Sie ist noch im Ruhestadium. Die charakteristischen bizarren Chromatinstrukturen des Kerns treten sehr deutlich hervor  
Vergrößerung  $\sim 1800:1$



sind aber auch kleine Sézary-Zellen von etwa  $8\ \mu\text{m}$  Durchmesser mit ebensolchen bizarren Kernstrukturen gut zu erkennen (Abb. 2).

Abb. 2. Kleine Sézary-Zelle 90 min nach Präparatherstellung. Die Zelle ist bereits im Bewegungsstadium. Auch hier sind die atypischen Kernstrukturen deutlich zu erkennen.

Vergrößerung  $\sim 1800:1$



Mit fortschreitender Zeit beginnen sich alle Zellen zu verformen, sie bewegen sich dann am Ort und fangen schließlich an zu wandern. Im Wanderungsstadium nehmen sie eine gestreckte Form an, wobei sich der Kern der äußeren Zellform anpaßt. Die Kerne der Sézary-Zellen erscheinen dann parallel gestreift. Lediglich unreife Lymphoblasten, die in geringer Zahl ebenfalls zu finden sind, bleiben sessil und lassen höchstens geringe Verformungen des Plasmarrandes erkennen (Abb. 3).

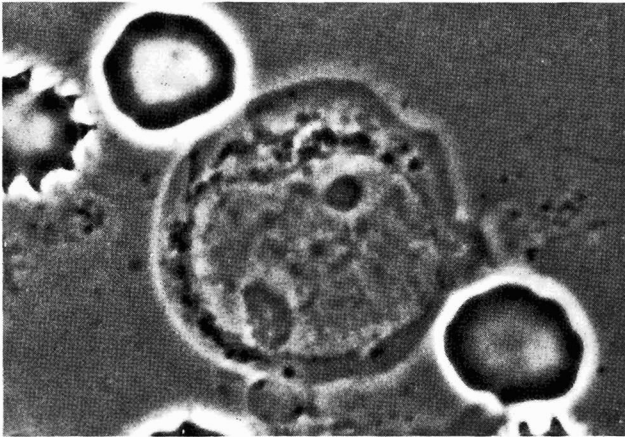


Abb. 3. Großer Lymphoblast, in dessen Kern 2 Nukleoli zu erkennen sind. Diese frühe Zellform bleibt am Ort; mit fortschreitender Zeit treten lediglich Verformungen des Zellrandes auf

Vergrößerung ~ 1800:1

Die Anordnung der Zellelemente während der Wanderung ist charakteristisch für bestimmte Leukozytenarten. So folgt bei den Lymphozyten, also auch bei Sézary-Zellen, auf das richtungsweisende Pseudopodium stets erst der Kern, und danach, im mehr oder weniger beutelartig abgesetzten Zellende, befinden sich die Granula. Solche taillenartigen Abschnürungen sind typisch für Lymphozyten. An den relativ langsam wandernden großen Sézary-Zellen sind sie besonders eindrucksvoll (Abb. 4a–c), da auch deren Kerne dann taillenartig eingeschnürt sind.

Durch dynamische und funktionelle Kriterien lassen sich *in vitro* die verschieden großen mononukleären Zellarten gut unterscheiden. So sind z. B. Monozyten durch ihre weiten undulierenden Zytoplasmastreifen am Zellrand sowie Phagozytose- und Pinozytose-Vorgänge eindeutig von Lymphozyten und damit auch von Sézary-Zellen zu unterscheiden, die derartige Phänomene nicht aufweisen.

Wir haben festgestellt, daß die Zahl der im Supravitalpräparat ermittelten Sézary-Zellen – und das waren über 50% mehr als im gefärbten Blutausschlag – dem Prozentsatz der Lymphozyten entspricht, die mit Schafserythrozyten Rosetten bilden und damit T-Lymphozyten entsprechen (vgl. LAY et al. [3]).

Neben den morphologischen Besonderheiten ihrer Kerne unterscheiden sich die Sézary-Zellen auch in der Kerndegeneration von normalen Lymphozyten. Während die Kerne normaler Lymphozyten im Verlauf der Degeneration *in toto* pyknotisch werden, löst sich der Kern der Sézary-Zelle kurz vor der Pyknose in mehrere kleine Teile auf (Abb. 5). Dieses Geschehen ist sicher auf die andersartigen Chromatinstrukturen ihrer Kerne zurückzuführen. Die Überlebenszeit der Sézary-Zellen dagegen entspricht mit 3 bis 5 Tagen etwa der normaler Lymphozyten.

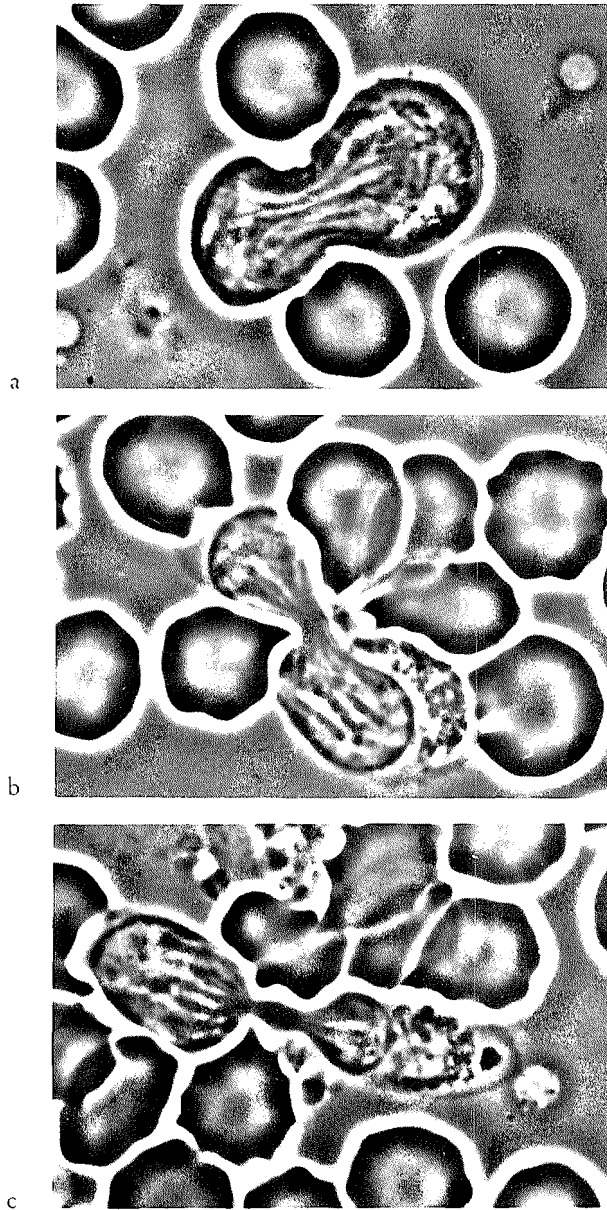


Abb. 4a: Große Sézary-Zelle 90 min nach Präparatherstellung. Sie befindet sich im Übergang vom Bewegungs- zum Wanderungsstadium. Die Zelle streckt sich, dabei paßt sich der Kern der äußeren Zellform an. Seine Kernstrukturen erscheinen dadurch parallel gestreift  
b: Die Zelle beginnt sich nun taillenartig einzuschnüren. Wanderungsrichtung von rechts unten nach links oben  
c: Die taillenartige Einschnürung ist extrem stark geworden. Die Zelle wandert dabei weiter  
Vergrößerung ~ 1800:1

Als bemerkenswertes Ereignis der Untersuchungen konnten in den Supravitalpräparaten immer wieder Interaktionen zwischen Sézary-Zellen, unreifen Blasten und autologen Erythrozyten verfolgt werden. Mit zunehmender Zeit verstärkte sich die

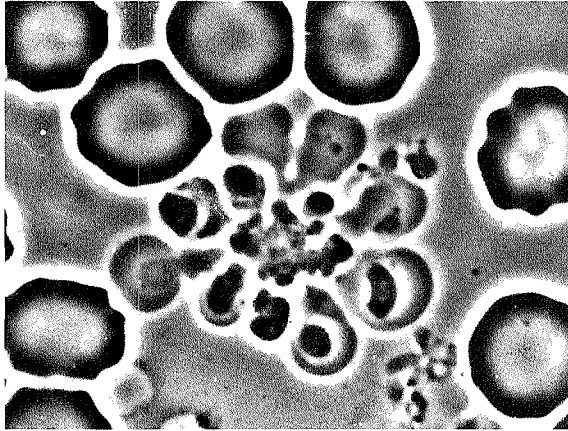


Abb. 5. Diese Sézary-Zelle ist nach zwei Tagen bereits degeneriert. Das Zytoplasma hat sich inselartig abgeschnürt, ebenso der Kern. Die pyknotischen Kernteile sind dunkel in den Zytoplasmainseln zu erkennen  
Vergrößerung ~ 1800:1

Affinität zu den umliegenden Erythrozyten, die schließlich zur Rosettenbildung führte (BAUER u. SCHÜTZ [1]), (Abb. 6a). Während sich bei ruhenden Zellen die Erythrozyten an jeder Stelle rund um die Zelle anlagerten, nahmen die wandernden Sézary-Zellen den ersten Kontakt zu den Erythrozyten mit dem Pseudopodium auf. War die Bindung stabil genug, wurden sie zum Zellende transportiert, wo dann oft bis zu 15 Erythrozyten dicht beieinander als Erythrozytencluster an einer Sézary-Zelle hingen (Abb. 6b). Die Bindung zwischen Erythrozytenmembran und Lymphozytenoberfläche war dann so fest, daß auch bei relativ hoher Wanderungsgeschwindigkeit und lebhafter Motilität diese Erythrozytencluster auch von kleinen Sézary-Zellen viele Stunden durch das Präparat geschleppt wurden (Abb. 6c). Rosetten- und Clusterbildungen nahmen im Laufe der Zeit zu und hatten zwischen der 10. und 20. Stunde nach der Präparatherstellung ihr Maximum. Aber auch nach zwei Tagen waren noch Rosetten zu finden.

Rosettenbildungen zwischen autologen Erythrozyten und Lymphozyten sind bei der Maus und auch beim Menschen seit längerem bekannt. Normalerweise liegen die autologen Spontanrosetten mit peripheren Blutlymphozyten unter 1%. Dagegen sind Rosettenbildungen mit Thymozyten und unreifen T-Lymphozyten zwischen 40% und 70% gefunden worden.

Über die Bedeutung dieser autologen Interaktionen besteht z. Zt. noch keine eindeutige Vorstellung. Am ehesten deutet man dieses, beim Sézary-Syndrom erstmals in vivo beobachtete Phänomen als Zeichen unreifer T-Lymphozyten. Geht man von dieser Vorstellung aus, so kann die bei den Sézary-Zellen im Supravitalpräparat stattfindende Rosettenbildung ein Hinweis dafür sein, daß die atypischen Lymphozyten des Sézary-Syndroms Membranmarker wie Thymozyten tragen.



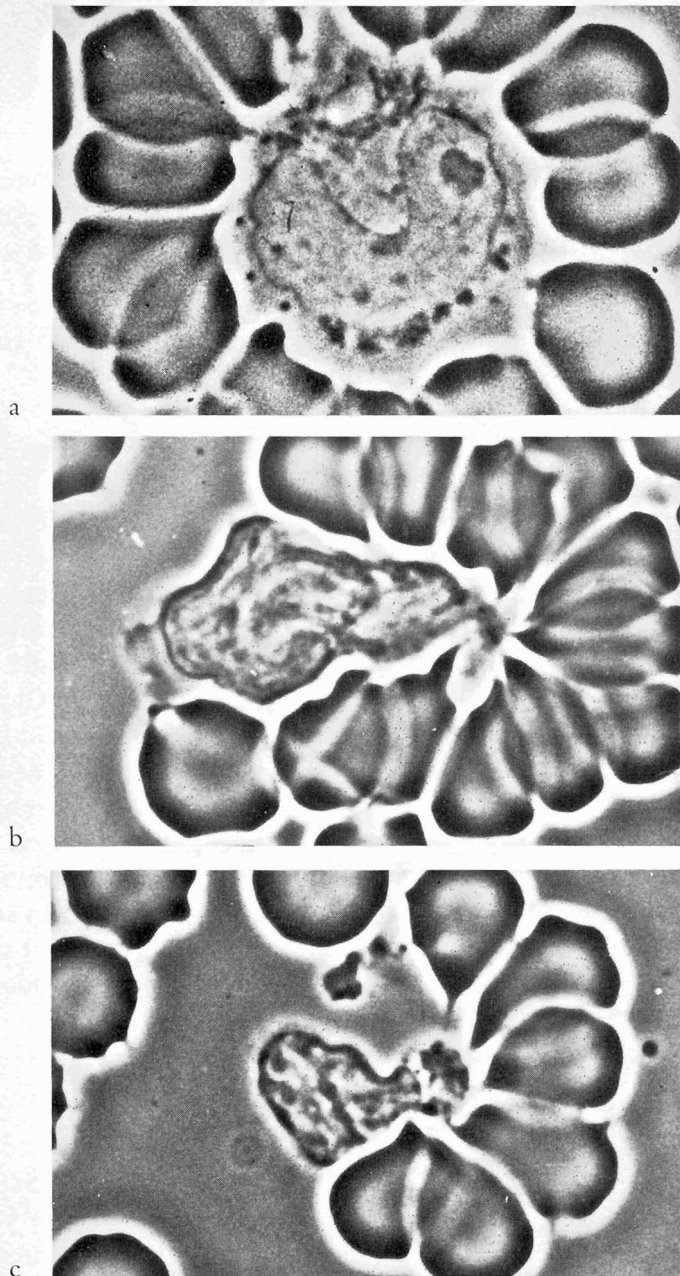


Abb. 6. Interaktionen mit autologen Erythrozyten  
a: Rosettenbildung um einen ruhenden Lymphblasten 3 Stunden nach der Präparatherstellung. Im Kern, rechts, ist ein großer Nukleolus zu erkennen  
b: Große Sézary-Zelle im Wanderungsstadium 25 Stunden nach Präparatherstellung. An ihrem Zellende schleppt sie elf Erythrozyten als Erythrozytencluster durch das Präparat. Ein nächster Erythrozyt wird durch das Pseudopodium, links, an die Zelle gebunden  
c: 28 Stunden nach Präparatherstellung wandert diese kleine Sézary-Zelle mit 6 Zellen als Erythrozytencluster noch immer. Wanderungsrichtung von rechts nach links

Vergrößerung ~ 1800:1

## Erläuterungen zum Film

### Wortlaut des gesprochenen Kommentars<sup>1</sup>

#### *Große, unreife lymphatische Zellen*

1 B/s und 30 B/min

Sézary-Zellen sind atypische Lymphozyten. Sie treten beim Sézary-Syndrom auf, einer Erkrankung, die zu den malignen Non-Hodgkin-Lymphomen gehört.

Das Vorhandensein atypischer Lymphozyten ist das wichtigste diagnostische Kriterium dieses dermato-hämatologischen Syndroms.

#### *Große Sézary-Zellen*

1 B/s und 30 B/min

Das Charakteristikum dieser atypischen Lymphozyten, der Sézary-Zellen, sind auffällige, streifig-tubuläre Kernstrukturen.

Im Supravitalpräparat sind die überlebenden Sézary-Zellen leicht zu erkennen, da die charakteristischen, bizarren Chromatinstrukturen ihrer Kerne durch das Phasenkontrastmikroskop sehr deutlich dargestellt werden. Diese Sézary-Zelle ist einige Zeit nach der Präparatherstellung noch im Ruhestadium.

Nach relativ kurzer Anpassungszeit beginnen sich die Zellen dann zu bewegen. Dabei verformt sich auch der Kern und mit ihm die Chromatinstrukturen.

Neben den bizarren, streifigen Chromatinstrukturen ist in diesem Zellkern ein Nukleolus zu erkennen, was auf die Unreife der Zelle deutet. Da sich die charakteristischen Kernstrukturen in den überlebenden Zellen sehr viel deutlicher darstellen als im Blutausschlag, sind die Aussagen hier signifikanter. Sie sind auch weitreichender, da Verhalten und Funktion mitbeurteilt werden können.

Die Kern/Plasma-Relation ist bei allen Sézary-Zellen stark zugunsten des Kerns verschoben. Das Zytoplasma enthält nur wenige, meist große Granula.

Schließlich beginnen auch die Sézary-Zellen zu wandern: Die Zelle streckt sich und bildet dabei ein Pseudopodium.

#### *Kleine Sézary-Zellen*

30 B/min

Im Gegensatz zum gefärbten Blutausschlag sind im Supravitalpräparat die tubulären Kernstrukturen auch in kleinen Sézary-Zellen ohne Mühe zu erkennen.

Diese Sézary-Zelle – links – ist bereits im Wanderungsstadium. Die Zellstrukturen sind wie in Lymphozyten angeordnet.

So folgt auch bei allen Sézary-Zellen auf das Pseudopodium stets erst der Kern, die Granula befinden sich im Zellende.

---

<sup>1</sup> Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

### *Rosettenbildung mit autologen Erythrozyten*

15 B/min und 30 B/min

Ab der zweiten Stunde etwa sind Interaktionen zwischen atypischen Lymphozyten und umliegenden Erythrozyten zu beobachten. Hier haften bereits drei Erythrozyten an einer Zelle.

Die Rosettenbildung mit autologen Erythrozyten – Ausdruck des immunologischen Geschehens – ist hier im Supravitalpräparat erstmals zu verfolgen.

Mit fortschreitender Zeit ist eine sich verstärkende Affinität der autologen Erythrozyten zu den Sézary-Zellen zu erkennen. Die Rosettenbildung nimmt zu.

Auch die Bindung zwischen den einzelnen Erythrozyten und den atypischen Lymphozyten, den Sézary-Zellen, wird mit der Zeit stärker.

Bei ruhenden, noch sessilen Zellen haften die Erythrozyten rundum überall an der Zelle, da die Rezeptoren auf der Lymphozytenoberfläche noch gleichmäßig verteilt sind. Zu diesem Zeitpunkt gleichen die Rosetten im Supravitalpräparat denen mit Schaferythrozyten zum Nachweis von T-Lymphozyten.

Auch an kleinen Sézary-Zellen kommt es zur Rosettenbildung. Diese Zelle ist noch sessil, das Zytoplasma aber schon in lebhafter Bewegung.

Die Bindung der Erythrozyten an die Sézary-Zelle ist nun so stabil, daß sie auch an wandernden Zellen haften bleiben, und zwar auffällig massiert am Zellende.

Kleinen Sézary-Zellen haften auch bei der Wanderung weniger Erythrozyten an als großen.

Aus fluoreszenz- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen ist die Ansammlung von Oberflächenrezeptoren an einer Stelle der Lymphozytenmembran bekannt. Dieses sogenannte capping wird hier im Supravitalpräparat sichtbar durch die zunehmende Anhäufung von Erythrozyten am Ende der wandernden Sézary-Zellen. Es entstehen Erythrozytencluster, die von den wandernden Zellen stundenlang durch das Präparat geschleppt werden.

Rosettenbildungen beginnen etwa ab der zweiten Stunde nach der Präparatherstellung, Erythrozytencluster findet man verstärkt zwischen der 10. und 20. Stunde. Aber auch nach 2 Tagen haften noch Erythrozyten an den atypischen Lymphozyten.

Trotz des am Zellende haftenden Erythrozytenclusters ist die Motilität dieser Sézary-Zelle auch 30 Stunden nach der Präparatherstellung noch sehr ausgeprägt. Dabei versucht die Zelle, noch weitere Erythrozyten an sich zu binden.

Bei genauer Beobachtung erkennt man, daß der erste Kontakt zu den Erythrozyten mit dem Pseudopodium aufgenommen wird. Bleibt ein Erythrozyt schließlich haften, wird er zu den anderen an das Zellende transportiert und dort mitgeschleppt.

Der Versuch einer Kontaktaufnahme wird hier besonders deutlich: Der Erythrozyt wird von der Sézary-Zelle förmlich verfolgt.

Es kommt aber nicht nur zwischen den typischen Sézary-Zellen und autologen Erythrozyten zu Interaktionen. Dieses Phänomen ist auch – wie hier – an großen, unreifen Lymphozyten mit normalen Kernstrukturen zu beobachten.

Wir erkennen in diesen Interaktionen den sichtbaren Hinweis dafür, daß die atypischen Lymphozyten des Sézary-Syndroms auch Membran-Marker tragen, wie sie

bei Thymozyten bzw. unreifen, Thymus-abhängigen T-Lymphozyten nachzuweisen sind.

Aber auch um sessile Lymphoblasten entstehen Rosetten, die – wie in diesem Fall – sogar besonders stark ausgeprägt sind.

### **English Version of the Spoken Commentary<sup>1</sup>**

#### *Große, unreife lymphatische Zellen*

Sézary cells are atypical lymphocytes. They occur in the Sézary syndrome, a disease which belongs to the group of malignant non-Hodgkin lymphomas.

The presence of atypical lymphocytes is the most important diagnostic criterion in this dermatohaematological syndrome.

#### *Große Sézary-Zellen*

The main characteristic of these atypical lymphocytes – the Sézary cells – is their obvious striated, tubular nuclear structure.

Surviving Sézary cells can easily be identified in a supravital preparation as the phase contrast microscope picks up the characteristic and bizarre chromatin structures of their nuclei very well. A short while after the preparation has been made, these Sézary cells are still quiescent.

After a relatively short period of adaptation, the cells then begin to move. The nucleus distorts, the chromatin structures also changing shape at the same time.

Apart from the bizarre striated chromatin structures a nucleolus can also be identified in the nucleus of this cell. This indicates that the cell is immature. Since the characteristic nuclear structures are much more striking in the surviving cells than in the blood smear, this means that the information they provide is much more reliable and meaningful as their behaviour and function can be determined at the same time. The nucleus/plasma ratio is always much greater on the side of the nucleus in Sézary cells. The cytoplasm contains only a few, usually large granules.

Finally, the Sézary cells also begin to migrate. The cell extends and forms a pseudopodium.

#### *Kleine Sézary-Zellen*

Even the tubular nuclear structures of small Sézary cells can be much more easily identified in the supravital preparation than in the stained blood smear.

The Sézary cell on the left is already in the migratory stage. The cell structures are arranged in the same way as in lymphocytes.

In all Sézary cells the nucleus always follows first after the pseudopodium. Granules are usually situated at the end of the cell.

#### *Rosettenbildung mit autologen Erythrozyten*

From approximately the second hour onwards, interactions between atypical lymphocytes and the erythrocytes surrounding them can be seen. Here three erythrocytes are already adhering to a cell.

The formation of rosettes of autologous erythrocytes – demonstrating the immunological process – can be seen here for the first time in the supravital preparation.

As time progresses, the affinity of the autologous erythrocytes for the Sézary cells becomes stronger and the formation of rosettes increases.

The erythrocytes also bind more firmly with time to the atypical lymphocytes – the Sézary cells. In quiescent cells which are still sessile, the erythrocytes adhere all over the surface of the cell, as the receptor sites are distributed evenly over the surface of the lymphocyte. At this stage the rosettes in the supravital preparation are similar to those formed by sheep erythrocytes on T-lymphocytes.

Rosettes are also formed around small Sézary cells. Although this cell is still sessile its cytoplasm is already very active.

The erythrocytes are now being bound so firmly to the Sézary cell that they even adhere to migratory cells; it is particularly noticeable that they are clustered at the end of the cell.

Fewer erythrocytes adhere to small migratory Sézary cells than to large cells.

From fluorescent and scanning electron microscopic investigations it is known that surface receptors cluster in one place on the lymphocyte. This is known as “capping” and can be clearly seen in the supravital preparation, since the erythrocytes increasingly bind to the ends of the migratory Sézary cells. Clusters of erythrocytes form which are carried for hours through the preparation by the migrating Sézary cells.

The formation of rosettes begins approximately 2 hours after the preparation has been made. The highest number of erythrocyte clusters can be found between the 10th and 20th hour. Even after 2 days erythrocytes still adhere to the atypical lymphocytes.

Despite the cluster of erythrocytes adhering to the end of the cell, this Sézary cell is still migrating actively through the preparation after 30 hours. In doing so, the cell is attempting to bind more erythrocytes to itself. On more close observation, it can be seen that the first contact with the erythrocyte is made by the pseudopodium. If an erythrocyte adheres, it is then transferred to the cluster at the end of the cell and carried along. The attempt at making contact is particularly clear here: The erythrocyte is literally pursued by the Sézary cell.

Interactions, however, do not only occur between typical Sézary cells and autologous erythrocytes. As can be seen here, this phenomenon can also be seen with large immature lymphocytes possessing normal nuclear structure. These interactions are a visible indication that the atypical lymphocytes which occur in the Sézary syndrome carry membrane markers, such as can be shown on thymocytes and immature thymusdependent T lymphocytes.

Rosettes also appear around sessile lymphoblasts, which – as can be seen here – are particularly large.

#### Literatur

- [1] BAUER, R., und R. SCHÜTZ: Sézary-Zellen im Supravitalpräparat – Autologe Rosettenbildung. Arch. Derm. Res., in press, 1980.
- [2] ENGEL, H.-J.: Ein Beitrag zum Bild des Leukozyten und seine filmische Darstellung. Res. Film, Vol. 5, No. 5 (1966), 461–472.
- [3] LAY, W. H., N. F. MENDES, C. BIANCO, and V. NUSSENZWEIG: Binding of sheep red blood cells to a large population of human lymphocytes. Nature 230 (1970), 531–532.
- [4] LUTZNER, M. A., and H. W. JORDAN: The ultrastructure of an abnormal cell in Sézary's syndrome. Blood 31 (1968), 719.
- [5] LUTZNER, M. A., R. EDELSON, P. SCHEIN, J. GREEN, C. KIRKPATRICK, and A. AHMED: Cutaneous T-cell lymphomas: The Sézary syndrome, mycosis fungoides and related disorders. NJH Conference. Ann. intern. Med. 83 (1975), 534.
- [6] POLLACK, A. M., M. DJALDETTI, F. REYES, P. BIBERFELD, M. T. DANIEL, and G. FLANDRIN: Surface features of Sézary cells: A scanning electron microscopy study of 5 cases. Scand. J. Haematol. 18 (1974), 207–213.
- [7] SÉZARY, A., Y. BOUVRAIN: Erythrodermie avec présence de cellules monstrueuses dans la derme et le sang circulant. Bull. Soc. Franc. Derm. Syph. 45 (1938), 254.

#### Filmveröffentlichungen

- [8] ENGEL, H.-J.: Leukozyten (*Rana esculenta*) – Emigration. Film E 450 des IWF, Göttingen 1962. Publikation von H.-J. ENGEL, Publ. Wiss. Film., Sekt. Med., Bd. 1, H. 1 (1970–1972), 13–20.
- [9] ENGEL, H.-J., R. SCHÜTZ und E. ZERBST: Die Blutzellen im Vitalpräparat. Film C 851 des IWF, Göttingen 1962. Publikation von H.-J. ENGEL, R. SCHÜTZ und E. ZERBST, Publ. Wiss. Film., Sekt. Med., Bd. 2, H. 3 (1973–1974), 227–244.

#### Abbildungsnachweis

Abb. 1–6: R. SCHÜTZ.