

(Aus dem Histologischen Institut zu Lund.)

Experimentelle Untersuchungen über die Sekundärknötchen in den Kniekehlenlymphknoten des Kaninchens bei Staphylokokkeninfektion.

Von

Johan Rudebeck.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen am 18. Januar 1932.)

Um *Hellmans* Theorie über die Sekundärknötchen als Mittelpunkt für die Reaktion des lymphatischen Gewebes gegen von außen und innen kommende Giftstoffe und da in erster Linie gegen Spaltpilze im Tierversuch zu prüfen, haben neulich *A.* und *H. Sjövall* das Verhalten der Kniekehlenlymphknoten beim Kaninchen bei regionärer Infektion mit *Bacillus pyocyaneus* untersucht. Sie fanden hierbei eine beträchtliche Zunahme der Anzahl der Sekundärknötchen auf der Seite, wo die Einspritzungen vorgenommen waren, eine Zunahme, die 10—20 Tage nach der Einspritzung am größten war¹.

Die vorliegende Arbeit beabsichtigt zu untersuchen, ob eine derartige Zunahme der Anzahl der Sekundärknötchen auch bei einer Einspritzung anderer Spaltpilze stattfindet. Sie bildet daher grundsätzlich eine Parallele zur Arbeit von *A.* und *H. Sjövall*, stützt sich zum Teil auf die dort mitgeteilten Ergebnisse und geht auch in der Hauptsache mit gleicher Methodik vor.

A. und *H. Sjövall* haben vergleichende Untersuchungen an den beiden Kniekehlenlymphknoten von Normaltieren verschiedenen Alters ausgeführt. Es bestand daher kein Grund, solche Untersuchungen hier zu wiederholen. Deshalb habe ich mich darauf beschränkt, von jedem Wurf ein Tier als Vergleichstier auszuwählen und mich im übrigen des ausgezeichneten Vergleichsobjektes bedient, welches der Lymphknoten der nicht infizierten Seite darstellt. Die Infektionszeit ist in dieser Untersuchung auch nicht in größerer Ausdehnung gewechselt worden, sondern die Tiere wurden in einem Zeitpunkte getötet, wo man auf Grund der Ergebnisse von *A.* und *H. Sjövall* erwarten konnte,

¹ Virchows Arch. 278, 258—283 (1930).

daß die Anzahl der Sekundärknötchen etwa ihr Höchstmaß erreicht haben könnte. Eine Folge hiervon war, daß die Anzahl Versuchstiere erheblich eingeschränkt werden konnte. Ferner haben die *Sjövall*schen Versuche gezeigt, daß die Ergebnisse bei erwachsenen und bei jungen Tieren grundsätzlich gleich ausfallen, und da man beim Arbeiten mit jungen Tieren viel Zeit spart, sind zu vorliegender Untersuchung nur derartige verwendet worden.

Das Prinzip für die Versuche ist in Kürze das, daß eine Fleischwasserkultur von Staphylokokken unter die Haut in den einen Unterschenkel einer Anzahl junger Kaninchen eingespritzt wurde. Nach einer gewissen Zeit wurden dann die Tiere getötet und die Kniekehlenlymphknoten der beiden Seiten einer vergleichenden Untersuchung unterzogen.

Zu den Versuchen wurden Fleischwasserreinkulturen menschlicher Staphylokokken verwendet. Von den 4 zum Versuch benutzten Würfen sind die Würfe I bis III mit dem gleichen Stamm behandelt worden, Wurf IV dagegen mit einem anderen Stamm, da die Versuche mit diesem Wurf in einem späteren Zeitpunkt zur Ausführung gelangten. Die Spaltpilze wurden unter allen Vorsichtsmaßregeln mit einer Platinöse von den Schiefagarkulturen, wo sie wachsend gehalten wurden, in Fleischwasser überführt, das dann 48 Stunden im Thermostat bei 37° stehen gelassen wurde. Nach dieser Zeit zeigte die Nährflüssigkeit eine dichte, gleichmäßige Trübung. Hiervon wurde eine wechselnde Menge unter die Haut eines Unterschenkels gespritzt, in einigen Fällen in den linken, in anderen in den rechten, wobei auf die erforderliche Keimfreiheit geachtet wurde.

Eine besondere Virulenzprobe ist mit dem zu Wurf I—III verwendeten Stamm nicht vorgenommen worden, da seine Virulenz für Kaninchen teils daraus hervorging, daß ein Versuchstier im Wurf I 40 Stunden nach der Einspritzung unter Erscheinungen einer Allgemeininfektion zugrunde ging, teils daraus, daß an einem anderen Tier (im Wurf III) ein großer Absceß am Unterschenkel in und um den Kniekehlenlymphknoten entstand. Die Virulenz des zu Wurf IV benutzten Stammes wurde durch Einspritzung von 2 cem der gleichen Bouillonkultur in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens geprüft, das am folgenden Tage starb.

Als Versuchstiere sind also Kaninchen von 4 verschiedenen Würfen, im ganzen 16 Tiere, verwendet worden. In jedem Wurf wurde ein Tier uninfiziert gelassen, während die übrigen Tiere jedes Wurfes gleichzeitig in einen Bein geimpft und später auch gleichzeitig getötet wurden; dies geschah bei den verschiedenen Würfen 10—17 Tage nach der Infektion. Durch wiederholtes Wiegen erfolgte eine Prüfung des Allgemeinbefindens der Tiere. Nur das Tier Nr. I/2 nahm während der ersten Woche etwas an Gewicht ab, wuchs aber darauf wieder normal. Alle anderen wiesen normale Gewichtskurven auf, boten auch keine anderen Zeichen einer allgemeinen Beeinflussung dar. Außer bei dem eben angeführten Tier mit einem Abscesse im Wurf III fehlten auch schwerere örtliche Erscheinungen.

Das nach 40 Stunden gestorbene Tier im Wurf I wurde zwar untersucht, aber nicht in die Tabelle aufgenommen, sondern nur im Text erwähnt. Der Befund in diesem Falle ist nicht mit den übrigen vergleichbar. Im gleichen Wurf ging auch ein anderes Tier 8 Tage nach der Infektion zugrunde, nachdem es bis dahin normal an Gewicht

zugenommen hatte. Dieses Tier, wie das oben erwähnte Tier mit dem Absceß, ist nicht in die Untersuchung aufgenommen. Die Tabelle (S. 508) umfaßt folglich nur 13 Tiere, von denen 9 infiziert und 4 Vergleichstiere sind.

Unmittelbar nach dem Töten jedes einzelnen Tieres wurde zuerst der eine und dann der zweite Popliteallymphknoten sowie schließlich auch die Milz freipräpariert und gewogen. Das Wiegen der Lymphknoten erfolgte auf $\frac{1}{2}$ cg genau. Die Lymphknoten wurden gleich nach dem Wiegen in Formalin fixiert, dann in Paraffin eingebettet, in 10 μ Dicke in Reihen geschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin oder van Gieson gefärbt. Auf Zeichenpapier wurde jeder 5. Schnitt in einem Zeichenapparat mit etwa 20facher Vergrößerung abgezeichnet. Außer den Umrissen der Lymphknoten wurde teils die Grenzlinie zwischen Rinde und Mark eingezeichnet, teils die jedes sichtbaren Sekundärknötchens. Da bei der verwendeten Vergrößerung die kleineren Sekundärknötchen nicht immer deutlich hervortraten, wurde nachher jeder Schnitt durch direkte Untersuchung im Mikroskop geprüft und berichtigt.

In bezug auf die Fehlerquelle, die darin liegt, daß nur jeder 5. Schnitt gezeichnet wurde, haben A. und H. Sjövall in ihrer Arbeit statistisch gezeigt, daß diese so unbedeutend ist, daß sie in einer Arbeit wie der vorliegenden keine Rolle spielt. Die erwähnte genaue mikroskopische Prüfung bei der hier vorliegenden Untersuchung bringt überdies mit sich, daß ich mich direkt davon habe überzeugen können, daß praktisch genommen kein Sekundärknötchen übersehen wurde, trotzdem auch kleine Sekundärknötchen mit undeutlicher oder ganz ohne helle Mitte berücksichtigt wurden.

Das Zählen der Sekundärknötchen selbst wurde nach dem von A. und H. Sjövall benutzten Verfahren ausgeführt: Die Sekundärknötchen erhalten in der Reihenfolge ihres Erscheinens laufende Nummern; jedes Sekundärknötchen wird in allen Schnitten, wo es vorkommt, mit der gleichen Nummer markiert, weshalb also die höchste Nummer die Anzahl Sekundärknötchen in dem Lymphknoten angibt.

Um den Gewichtshundertsatz von Mark-, Rinden- und Sekundärknötchengewebe in jedem Lymphknoten zu berechnen, wurden die Zeichnungen auf homogenem Papier kalkiert, worauf die Papiere, die die 3 Gewebearten vertreten, herausgeschnitten und je für sich gewogen wurden.

Als Sekundärknötchen wurden alle gut abgegrenzten, rundlichen Bildungen in der Rinde, mit Ausnahme der von Ehrich als Pseudo-sekundärknötchen bezeichneten, aufgefaßt. Es wurden mit anderen Worten nicht nur Sekundärknötchen mit deutlich heller Mitte, also „Flemmings Sekundärknötchen“ und „Übergangsekundärknötchen“ berücksichtigt, sondern auch „solide Sekundärknötchen“ (laut Ehrichs Bezeichnung). Außerdem wurde im Mikroskop untersucht, wieviele von den so gezeichneten Sekundärknötchen solide waren und wieviele eine helle Mitte hatten. Als solid sind hierbei nur jene Sekundärknötchen bezeichnet worden, in denen nicht einmal der Beginn einer hellen Mitte festgestellt werden konnte, da dies die am wenigsten willkürliche Grenze ist. Die Möglichkeit zu einer subjektiven fehlerhaften Beurteilung besteht natürlich trotzdem, aber sie dürfte nicht groß sein. Gleichwie die Grenze zwischen Sekundärknötchen mit und ohne helle Mitte zuweilen schwer

zu ziehen ist, läßt sich in anderen Fällen schwer entscheiden, ob ein Sekundärknötchen überhaupt vorliegt oder nicht. Man findet nämlich häufig kleine rundliche Bildungen, die aus dichter gelagerten Lymphocyten bestehen und die den Eindruck einer ersten Anlage zu einem soliden Sekundärknötchen machen. Wenn diese Bildungen von der Umgebung scharf abgegrenzt waren und im Mikroskop wenigstens durch 2—3 Schnitte nacheinander verfolgt werden konnten, wurden sie mitgezählt, anderenfalls nicht. Die Grenze ist allerdings subjektiv, dürfte aber einigermaßen zufriedenstellend sein.

Die Abtrennung der soliden Sekundärknötchen wurde aus zwei Gründen vorgenommen. Erstens ist diese Art von Sekundärknötchen in dem Schrifttum wenig erörtert, weshalb man sich auch keine sichere Auffassung von ihrer Natur bilden kann. Das vorliegende Material kann auf Grund dieser Aufteilung unabhängig davon beurteilt werden, welche Auffassung man von diesen Bildungen hat, ob man sie nun als eigentliche Sekundärknötchen betrachtet oder nicht. Zweitens zeigte es sich im Laufe der Untersuchung, daß Zahlenwerte erhalten wurden, die für die Beurteilung des Verhaltens dieser Bildungen bei einer Infektion und damit auch für die Frage nach ihrer Natur (s. besonders Wurf II) eine gewisse Beachtung verdienen.

Ein Unterscheiden von Sekundärknötchen mit oder ohne helle Mitte einerseits, von „Pseudosekundärknötchen“ andererseits, ist in der Regel nicht schwierig, da die Größe und der Bau so große Unterschiede aufweisen, daß selten ein Zweifel zu bestehen braucht. Ich habe allerdings gleich wie *Ehrlich* Bilder gefunden, die den Eindruck von Übergangsbildern machen, glaube aber doch keine bestimmte Auffassung hierüber äußern zu können.

Die Fehlerquellen, mit denen eine Anzahlberechnung dieser Art natürlich behaftet ist, sind mit dem oben angegebenen Verfahren sicherlich nicht so groß, daß sie die erhaltenen Versuchsergebnisse nennenswert beeinflussen oder verschieben. Was hier angestrebt wird, sind ja auch keine mathematisch genauen Zahlen, sondern nur Werte innerhalb so mäßiger Fehlergrenzen, daß man aus den Unterschieden zwischen den Zahlenwerten für die Kniekehlenlymphknoten der geimpften und der nicht geimpften Seite deutlich eine bestimmte Wirkung der örtlichen infektiösen Reizung herauslesen kann.

Die Durchschnittsgröße der Sekundärknötchen wurde aus der gesamten Anzahl gezeichneter Querschnitte von Sekundärknötchen in jedem Lymphknoten annähernd bestimmt. Diese Zahl wurde mit der Anzahl der Sekundärknötchen des in Rede stehenden Lymphknotens geteilt. Der Quotient gibt demnach an, wie oft ein Sekundärknötchen durchschnittlich gezeichnet wurde. Da jeder 5. von den 10 μ dicken Schnitten gezeichnet wurde, erhält man also den mittleren Durchmesser der Sekundärknötchen in μ , wenn man diesen Mittelwert mit 50 vervielfacht, da jeder gezeichnete Schnitt 5 Stück 10 μ dicke Schnitte darstellt.

	Tier	Gewicht in g	Gewicht der Knie- kehlen- lymph- knoten in mg		Gesamt- anzahl Sekundär- knötchen		Index	Anzahl Sekundär- knötchen mit heller Mitte		Index
Wurf I	1	335	50	20	335	167	2,0	195	86	2,3
Alter 25 Tage	2	225	80	20	426	237	1,8	363	132	2,8
Infektionszeit 12 Tage	K	320	20	15	257	204	1,3	114	69	1,7
Wurf II	1	345	25	10	333	230	1,4	201	14	14,4
Alter 30 Tage	2	320	15	10	267	129	2,1	132	37	3,6
Infektionszeit 10 Tage	3	340	30	15	264	132	2,0	159	13	12,2
	K	280	10	10	140	130	1,1	12	31	0,4 ¹
Wurf III	1	800	60	45	491	380	1,3	416	304	1,4
Alter 49 Tage	K	800	80	70	426	408	1,0	354	348	1,0
Infektionszeit 17 Tage										
Wurf IV	1	415	10	10	141	89	1,5	97	40	2,4
Alter 45 Tage	2	460	50	40	182	105	1,7	142	72	2,0
Infektionszeit 17 Tage	3	475	20	20	161	74	2,2	125	60	2,1
	K	465	20	30	137	107	1,3	78	68	1,1

Die Frage, in welchem Maße die mit dieser Methode erhaltenen Mitteldurchmesserwerte als zuverlässig zu betrachten sind, wurde so untersucht, daß für einen Teil des Materials (sämtliche Tiere in den Würfen II und IV) die Verteilung der Sekundärknötchen auf verschiedene Größenklassen festgestellt wurde. Die Sekundärknötchen wurden, je nachdem sie in einem, zwei, drei usw. der gezeichneten Schnitte vorkommen, gruppiert. Die so erhaltenen Häufigkeitskurven wurden nebst den ursprünglichen Werten für die mittleren Durchmesser einer statistischen Bearbeitung unterzogen, bei der mir Assistent *T. Larsson* vom Statistischen Institut in Lund behilflich war. Hierbei hat sich ergeben, teils daß die Unsicherheit dieser Durchmesserzahlen eine so geringe ist, daß die gefundenen Unterschiede als kennzeichnend zu betrachten sind, teils daß die Form der Häufigkeitskurven eine solche ist, daß ein Vergleich der Durchmesserzahlen einen zufriedenstellenden Ausdruck für das Verhältnis zwischen der Größe der Sekundärknötchen in dem infizierten und dem nicht infizierten Lymphknoten liefert. Man kann aus ihnen also herauslesen, ob eine Zunahme der Durchschnittsgröße der Sekundärknötchen stattgefunden hat oder nicht. Die Häufigkeitskurven S. 512 geben hierüber weitere Erklärung.

Die Untersuchungsergebnisse.

In der beigefügten Tabelle sind die Ergebnisse der Untersuchungen mitgeteilt. Jeder Wurf ist für sich aufgestellt, und das Vergleichstier in der Tabelle für jeden Wurf zuletzt angegeben. In den verschiedenen Spalten: Gewicht der Kniekehlenlymphknoten, Gesamtzahl Sekundärknötchen, Anzahl Sekundärknötchen mit heller Mitte, Anzahl solider Sekundärknötchen, Mittlerer Durchmesser der Sekundärknötchen sowie Gewichtshundertsatz für Rinden-, Mark- bzw. Sekundärknötchengewebe, stehen für die infizierten Tiere überall die Zahlen der infizierten Lymphknoten in der ersten Kolonne, die der nicht infizierten Lymphknoten

¹ Invertierter Wert = 2,6.

Anzahl solider Sekundär- knötchen		Mittlerer Durch- messer der Sekundär- knötchen in μ		Gewichts- hundert- satz Rinde ohne Sekundär- knötchen		Gewichts- hundert- satz Mark		Gewichts- hundert- satz Sekundär- knötchen- gewebe		Gewicht der Milz in mg	Einspritzungs- menge in ccm
140	81	295	175	60,2	56,3	24,7	35,2	15,1	8,5	450	0,25
63	105	210	170	73,8	64,8	16,9	25,3	9,2	9,9	360	0,5
143	135	205	195	68,4	60,2	21,5	30,4	10,1	9,4	600	—
132	216	165	125	72,3	72,2	18,5	21,7	9,2	6,1	290	0,5
135	92	125	105	66,5	68,0	27,3	29,2	6,2	2,8	290	0,125
105	119	140	130	69,4	77,1	23,9	19,3	6,7	3,6	300	0,25
128	99	100	115	67,5	71,7	29,0	24,5	3,5	3,8	260	—
75	76	190	205	62,1	63,3	27,4	26,7	10,5	10,0	990	1,5
72	60	205	235	62,1	62,5	28,0	28,0	9,9	9,4	730	—
44	49	140	125	74,0	62,6	16,2	32,3	9,8	5,2	300	0,6
40	33	160	125	75,4	79,0	16,5	15,8	8,1	5,1	400	0,4
36	14	165	140	62,6	67,1	27,1	25,5	10,3	7,4	335	0,2
59	39	155	150	54,8	57,8	36,5	33,5	8,7	8,7	370	—

in der zweiten; für die Vergleichstiere wiederum stehen die Zahlen der Lymphknoten mit der größten Anzahl Sekundärknötchen in der ersten Kolonne. Dies beabsichtigt, eine größere Möglichkeit zu einem übersichtlichen Vergleich zwischen den pathologischen und den normalen Verschiedenheiten im vorliegenden Material zu geben. Die aufgenommenen Indexziffern wurden für die Versuchstiere durch Teilung des Wertes für den infizierten Knoten mit dem Wert für den nicht infizierten erhalten, für die Vergleichstiere durch Division des Wertes für den Lymphknoten mit der größten Anzahl von Sekundärknötchen mit dem Wert für den anderen Knoten. Alle Zahlen für infizierte Lymphknoten sind fett gedruckt.

In bezug auf das Lymphknotengewicht erhalten wir durch die Vergleichstiere eine Auffassung vom normalen Unterschied zwischen den Lymphknoten der beiden Seiten bei ein und demselben Tier. Wie ersichtlich, ist er in keinem der vorliegenden Fälle groß, was mit den Untersuchungsergebnissen von A. und H. Sjövall an einer großen Anzahl von normalen Tieren in Übereinstimmung steht. Hinsichtlich der infizierten Tiere sehen wir, daß in Wurf I und II, die eine kürzere Infektionszeit gehabt haben, der infizierte Lymphknoten durchweg der größere ist, daß der Unterschied bei 4 der 5 Tiere größer ist als bei irgendeinem der Vergleichstiere, und daß er besonders bei Wurf I höchst bedeutend ist. Im Wurf III und IV, die längere Zeit infiziert gewesen sind, sind die Lymphknoten in 2 Fällen auf beiden Seiten gleich groß, in 2 Fällen ist der infizierte Knoten größer, wenn auch ziemlich unbedeutend. Auf Grund der Ergebnisse, zu denen A. und H. Sjövall bei ihren Unter-

suchungen gekommen sind, können wir hier den Schluß ziehen, daß die infizierten Lymphknoten in Wurf I und II sich in einem Zustand reaktiver Anschwellung befinden, während in Wurf III und IV diese Anschwellung ganz oder teilweise zurückgegangen ist. Daß es sich in den letzten Fällen um eine ausgebliebene Reaktion handeln könnte, kann ausgeschlossen werden, teils auf Grund der Untersuchungen von A. und H. Sjövall, teils auf Grund des mikroskopischen Aussehens der Lymphknoten.

In bezug auf die die Lymphknoten bildenden Gewebearten (Rinde ohne Sekundärknötchen, Mark sowie Sekundärknötchengewebe) läßt sich folgendes feststellen. Die Hundertzahlen für Rinde und Mark zeigen ein äußerst unregelmäßiges Verhalten, indem die Zahlen für den infizierten Lymphknoten im Verhältnis zu jenen für den nicht infizierten eine Verschiebung bald zugunsten der Rinde bald zugunsten des Markes aufweisen. Bei der Beurteilung dieser Zahlen muß natürlich darauf Rücksicht genommen werden, daß normale Unterschiede vorkommen, was auch die Zahlen für die Vergleichstiere dartun. Der Hundertsatz Sekundärknötchengewebe ist bei allen Versuchstieren mit Ausnahme eines (I/2) in dem infizierten Knoten größer als in dem nicht infizierten, während die Vergleichstiere in bezug auf die Zahlen für die beiden Knoten auffallend gute Übereinstimmung aufweisen.

Die Anzahl Sekundärknötchen ist in dem infizierten Lymphknoten der Versuchstiere durchweg größer als in dem nicht infizierten. Der Unterschied zwischen dem infizierten und dem nicht infizierten Lymphknoten ist sowohl für sich genommen wie verhältnismäßig in allen 4 Würfen größer als der Unterschied zwischen den beiden Lymphknoten des betreffenden Vergleichstieres, und dies ob man nun mit der Gesamtzahl Sekundärknötchen oder nur mit den Sekundärknötchen mit heller Mitte rechnet. Die Vermehrung der Anzahl in dem infizierten Knoten ist am geringsten bei dem einzigen untersuchten Versuchstier in Wurf III. Sie ist hier sogar so klein, daß das Ergebnis kaum als positiv bezeichnet werden kann. Man könnte höchstens sagen, daß es in die gleiche Richtung wie die anderen weist. Dies kann vielleicht auf die Menge der eingespritzten Spaltpilze zurückgeführt werden, die in diesem Falle ungefähr 3mal so groß wie in irgendeinem der anderen Würfe, demnach allzu stark gewesen ist. Beim 2. Versuchstier in diesem Wurf, das eine wenig größere Menge als das hier in Rede stehende Tier erhalten hatte, kam es zu einer Einschmelzung des Lymphknotens. Wir wissen ja auch, daß bei einer zu großen Gabe die Reaktion der Lymphknoten ganz ausbleiben kann. In den anderen Würfen dagegen ist der Unterschied in der Anzahl für jedes Versuchstier so groß, daß er als durch die örtliche Infektion verursacht zu bezeichnen ist.

Die Gesamtsumme von Sekundärknötchen, bzw. die Anzahl von Sekundärknötchen mit heller Mitte ist in den infizierten Lymphknoten

durchgehend in jedem Wurf größer als die entsprechende Zahl für die Lymphknoten des betreffenden Vergleichstieres. In den meisten Fällen ist der Unterschied erheblich; auffallend klein ist er scheinbar für Tier IV/1, aber in seiner Beziehung zum Gewicht des Lymphknotens ist er auch hier ziemlich bedeutend. Für die nicht infizierten Lymphknoten halten sich die in Rede stehenden Zahlen ungefähr in gleicher Höhe mit den Lymphknoten der betreffenden Vergleichstiere, häufig sogar merkbar niedriger. Nichts deutet mit anderen Worten darauf hin, daß die Lymphknoten der nicht infizierten Seite der Versuchstiere mitreagiert haben sollten.

Für die infizierten Tiere wird mit einer Ausnahme (IV/3) der Index für die Sekundärknötchen mit heller Mitte größer als der Index für die Gesamtzahl Sekundärknötchen, d. h. die infizierten Lymphknoten enthalten in der Regel auf Hundert berechnet mehr Sekundärknötchen mit heller Mitte. Außerdem ist dieser Hundertsatz in den meisten Fällen auch größer als der der Vergleichstiere. Diese Erscheinung ist besonders stark ausgeprägt im Wurf II, darauf beruhend, daß die Sekundärknötchen mit heller Mitte hier in allen nicht infizierten Lymphknoten durchweg in viel geringerer Anzahl vorhanden sind, auch in den Lymphknoten der Vergleichstiere.

Die erhaltenen Zahlen für den mittleren Durchmesser der Sekundärknötchen sind bei den Versuchstieren durchgehend größer für den infizierten als für den nicht infizierten Knoten. Eine Ausnahme hiervon bildet nur III/1, wo man, vielleicht auf Grund der oben erwähnten kräftigen Gabe, auch den kleinsten Ausschlag in bezug auf die Anzahl Sekundärknötchen erhalten hat.

Die Häufigkeitskurven der soliden Sekundärknötchen, der Knötchen mit heller Mitte sowie die Gesamtzahl der Sekundärknötchen sind für 2 Versuchstiere (II/2 und IV/1) und für 1 Vergleichstier (II/K) in der beistehenden Abbildung wiedergegeben. Für jeden Lymphknoten sind also 3. verschiedene Kurven erhalten worden. Einander entsprechende Kurven für die beiden Lymphknoten des gleichen Tieres sind in die gleiche Figur eingezeichnet, wobei in bezug auf die Versuchstiere eine ausgezogene Kurve für den infizierten, eine gestrichelte Kurve für den nicht infizierten Lymphknoten gilt. In diesem Zusammenhang sind die Kurven für die Gesamtanzahl Sekundärknötchen der Versuchstiere beachtenswert. Sie zeigen, daß der Gipfelpunkt der Kurve für den infizierten Lymphknoten weiter rechts liegt als der für den entsprechenden nicht infizierten Knoten sowie daß die Zunahme der Anzahl von Sekundärknötchen sich so auf die verschiedenen Größenklassen verteilt, daß eine Zunahme der Durchschnittsgröße vorhanden sein muß. Die hier abgebildeten Kurven für die beiden Lymphknoten eines Vergleichstieres zeigen dagegen eine auffallend durchgehende gleichartige Verteilung auf die verschiedenen Klassen.

Das Tier im Wurf I, das 40 Stunden nach der Einspritzung in einem Alter von 27 Tagen starb, zeigte weder auf der infizierten noch auf der nicht infizierten Seite irgendwelche Sekundärknötchen. In dem infizierten Lymphknoten war ein starker Sinuskatarrh vorhanden, der die

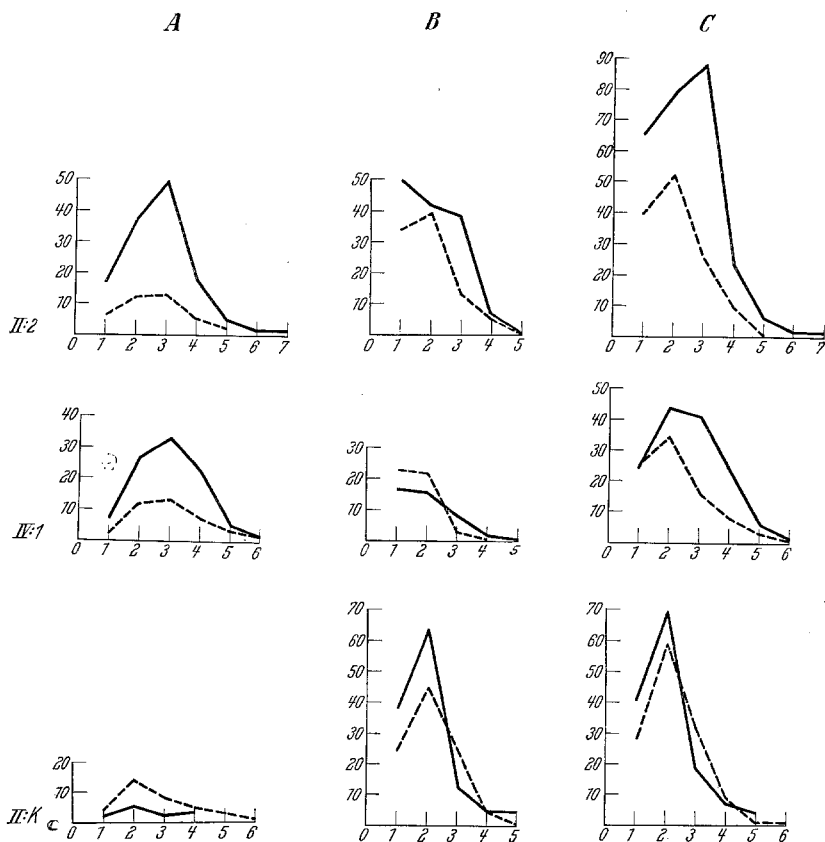


Abb. 1. Die Zahlen der Ordinate bezeichnen die Anzahl der Sekundärknötchen, die der Abszisse die Größenklassen. A Sekundärknötchen mit heller Mitte, B solide Sekundärknötchen, C Gesamtanzahl Sekundärknötchen. Erklärung im Text.

Grenzen zwischen Mark und Rinde verwischte. Der nichtinfizierte Lymphknoten zeigte hier und da eine ganz leichte Endothelwucherung, aber die Grenze zwischen Rinde und Mark war ganz scharf, da diese beiden Gewebe im großen normalen Bilder aufwiesen. In keinem der Lymphknoten kamen Blutungen oder Nekrosen vor. A. und H. Sjövall führen in ihren Untersuchungen einige Normaltiere an, die im Alter von 30 bis 32 Tagen zahlreiche Sekundärknötchen in den Kniekehlenlymphknoten hatten, aber andererseits ein 35 Tage altes Tier ohne Sekundärknötchen. Daß ein Kaninchen im Alter von 27 Tagen keine Sekundär-

knötchen in seinen Kniekehlenlymphknoten hat, sagt also an und für sich nichts. Daß in dem infizierten Lymphknoten keine Sekundärknötchen vorhanden sind, stimmt mit dem Untersuchungsergebnis von A. und H. *Sjövall* überein, daß die Sekundärknötchen erst am 5.—7. Tag nach der Infektion erscheinen. Die Infektionszeit war hier nur 40 Stunden. Das mikroskopische Bild einer starken Allgemeinreaktion in dem Lymphknoten kann auch erklären, daß keine örtlichen Reizungsherde ausgebildet worden sind.

Das Gewicht der Milz der Versuchstiere, verglichen mit dem der entsprechenden Vergleichstiere, wies auf keine Mitreaktion der Milz hin.

Schließlich will ich einige Fragen über das Verhältnis zwischen den soliden Sekundärknötchen und denen mit heller Mitte, hauptsächlich anläßlich der letzten Arbeit von *Ehrich* (1931), erörtern.

Es fällt schon unmittelbar unter dem Mikroskop auf, daß die soliden Sekundärknötchen im großen und ganzen bedeutend kleiner sind als die Sekundärknötchen mit heller Mitte. Dies wird von den Kurven S. 512 beleuchtet. Die soliden Sekundärknötchen gehören, wie aus diesen Kurven hervorgeht, meistens zu den Klassen 1 und 2, sowie in wechselndem Maße auch zu Klasse 3, während sie in höheren Klassen nur in unbedeutender Anzahl vorkommen. Sekundärknötchen mit heller Mitte haben in der Regel ihre Höchstzahl in der Klasse 3 und sind im Verhältnis zu den soliden in erheblich geringerer Anzahl in den beiden niedrigsten Klassen vorhanden, dagegen oft ziemlich zahlreich in den Klassen 4 und 5 und kommen in Größenklassen vor, wo überhaupt keine soliden anzutreffen sind.

Die soliden Sekundärknötchen haben einige Verfasser (*Flemming*, *Groll* und *Krampf*, *Wätjen*, *Rotter*) als Sekundärknötchen gedeutet, die in einen Ruhezustand übergegangen sind. Andere, letzthin *Ehrich*, betrachten sie im Gegenteil als primär entstandene Bildungen, aus denen sich dann die eigentlichen Sekundärknötchen („*Flemmings* Sekundärknötchen“) entwickeln können. Wiederum andere, z. B. *Hoepke*, erblicken in ihnen Herde für eine besonders starke Lymphzellenbildung. Die vorliegenden Untersuchungen scheinen mir für die Richtigkeit der Auffassung *Ehrichs* zu sprechen. Zunächst gibt es in allen nicht infizierten Lymphknoten zahlreiche solide Knötchen, und auch die anderen Sekundärknötchen in diesen Lymphknoten sind zum größten Teile ziemlich klein und ihre helle Mitte hat nicht eine solche Größe und Ausbildung erreicht, daß man hier von ganz typischen *Flemmingschen* Sekundärknötchen sprechen kann. Alle diese Sekundärknötchen bei so jungen Tieren, um die es sich hier handelt, können nicht als „Ruhezustand“ aufgefaßt werden, die aus früher vorhandenen, größeren Sekundärknötchen von typischem Aussehen entstanden sind. Sie können nichts anderes als primäre Bildungen darstellen.

Der Hundertsatz an Sekundärknötchen mit heller Mitte ist in den infizierten Lymphknoten so gut wie durchgehend größer, und unter diesen Sekundärknötchen befindet sich außerdem eine beträchtliche Anzahl typischer „*Flemmingscher* Sekundärknötchen“, neben welchen alle Übergänge zwischen diesen und den soliden angetroffen werden können. Auch z. B. bei Tier IV/3, wo der Hundertsatz Sekundärknötchen mit heller Mitte in dem infizierten Lymphknoten etwas niedriger ist als in dem nicht infizierten, zeigen die Sekundärknötchen in jenen doch durchweg einen größeren Grad von „Reife“ mit hellen Zentren, die im großen bedeutend deutlicher und größer sind. Gehen wir zu den 3 Versuchstieren im Wurf II, wo die Zunahme an Sekundärknötchen mit heller Mitte im Verhältnis zu den soliden Sekundärknötchen am größten ist, so finden wir folgende Hundertzahlen für Sekundärknötchen mit heller Mitte in den Lymphknoten der beiden Seiten:

Tier Nr.	Infizierte Lymphknoten		Nicht infizierte Lymphknoten	
	mit heller Mitte %	solide %	mit heller Mitte %	solide %
1	63	37	6	94
2	49	51	29	71
3	60	40	10	90

Für die beiden Lymphknöten der Vergleichstiere sind die entsprechenden Hundertzahlen 9 und 91, bzw. 24 und 76.

Diese Zahlen können wohl nur so gedeutet werden, daß die soliden Sekundärknötchen durch die Infektion zu einer Entwicklung zu eigentlichen Sekundärknötchen mit deutlich heller Mitte früher gezwungen worden sind, als es ohne erfolgter Infektion der Fall gewesen wäre. Hieraus könnte man den Schlußsatz ziehen, daß die soliden Sekundärknötchen ein Vorstadium ohne größere Tätigkeit zu den Sekundärknötchen mit heller Mitte darstellen, welche letztere in höherem Grade die besondere Leistung erfüllen, die durch den Namen Reaktionszentrum ausgedrückt wird. Daß die absolute Anzahl solider Sekundärknötchen in dem infizierten Lymphknoten trotzdem nicht immer geringer sondern bisweilen sogar bedeutend größer als in dem nicht infizierten ist, beruht dann natürlich darauf, daß unter dem Einfluß der Infektion ganz neue Sekundärknötchen entstehen, die anfangs dem soliden Typus angehören.

Auch ein anderer Umstand kann angeführt werden, der, mag sein mehr subjektiv, in gleiche Richtung weist. In infizierten Lymphknoten findet man häufig sehr breite Rindenabschnitte, wo Sekundärknötchen in mehreren Reihen außerhalb einander ausgebildet werden. Die inneren haben dann in der Regel deutliche helle Mitten, während in den Rändern, in kleinen vorspringenden Lymphknotenteilen, regelmäßig ganz kleine

Sekundärknötchen ohne Andeutung von heller Mitte liegen (vgl. *Ehrich* 1931, S. 321.)

Hiermit ist natürlich nicht gesagt, daß alle „*Flemmingschen* Sekundärknötchen“ in dieser Weise entstehen müssen. *Ehrich* selbst sagt ausdrücklich (S. 351), daß „*Flemmingsche* Sekundärknötchen“ primär im lymphatischen Gewebe entstehen können, in welchem Falle sie ohne Randzone oder Kappe sind; dies ist laut *Ehrich* namentlich nach einer starken Reizung der Fall, wenn viele Sekundärknötchen gebildet werden, und dies besonders im Innern von Mark und Rinde. *Hellman* hebt gleichfalls hervor (1930, S. 333), daß man häufig ganz kleine Zentren ohne dunklen Ring findet. Ich selbst habe unter dem Mikroskop die gleiche Beobachtung gemacht. *Hellman* äußert den Gedanken, daß die verschiedenen Entstehungsweisen eine verschiedene Reaktionsweise darstellen könnten. Es ist möglich, daß ein verschiedenes Lebensalter hierbei auch seine Rolle spielen kann. Gleichwie man nicht bestimmt behaupten kann, daß alle Sekundärknötchen aus einem soliden Vorstadium entstehen, so kann auch nicht ausgeschlossen werden, daß solide Sekundärknötchen zuweilen Ruhe- oder Rückbildungszustände darstellen.

Im übrigen kann ich hier nicht näher auf das von *Ehrich* S. 355 aufgestellte Schema über die Entstehung der verschiedenen Sekundärknötchen, ihr Übergehen ineinander und ihr Verschwinden eingehen. Als Ganzes erscheint indessen dieses ganze Schema auf einem subjektiven und daher unsicheren Grund aufgebaut, der hauptsächlich darin besteht, daß der Verfasser sagt, Bilder gefunden zu haben, die er als Übergangsbilder deutet und damit die Frage als gelöst betrachtet. Um ein Beispiel anzuführen: *Ehrich* sagt, daß „Pseudosekundärknötchen“ sowohl aus „soliden“, „*Flemmingschen*“ wie aus „Übergangsssekundärknötchen“ entstehen können. Es dürfte doch äußerst schwierig sein, in jedem besonderen Fall sicher zu entscheiden, ob ein Übergangsbild, das so aussieht als ob es auf dem Wege zu einem „Pseudosekundärknötchen“ wäre, aus einem „soliden“, einem „*Flemmingschen*“ oder einem „Übergangssknötchen“ hervorgegangen ist. Daß ein Zusammenhang zwischen den verschiedenen Formen besteht, ist wohl das Wahrscheinlichste, aber mit Sicherheit und in den Einzelheiten zu entscheiden, wie dieser Zusammenhang sich gestaltet, erscheint sicherlich nicht leicht. *Ehrich* hat keinen befriedigenden Beweis dafür erbracht, daß sein Schema der Wirklichkeit entspricht. Er sagt eigentlich nur kurz und gut, daß er gesehen hat, daß es so ist.

Auf noch unsichererem Grund scheinen die Kurven auf S. 318, 332, 338 und 343 in *Ehrichs* Arbeit zu ruhen. Verfasser sagt selbst auf S. 318: „Die Masse der *Flemmingschen* Sekundärknötchen oder der sog. Keimzentren konnte ich hier nicht in der von *Hellman* und *White* und *Sjövall* und *Sjövall* angegebenen Weise bestimmen, da zu meinen Versuchen ein viel zu großes Material nötig war. Ich habe mich deshalb darauf

beschränkt, die Anzahl abzuschätzen und die Durchmesser der größten Keimzentren unter dem Mikroskop mit einem Okularmikrometer zu messen“. Eine Errichtung von Kurven auf Grund einer derartigen, wenigstens in bezug auf die Anzahl rein subjektiven Abschätzung ist sicher wenig zuverlässig. Zweckmäßiger dürfte es sein, wie *A. und H. Sjövall* es tun, die Kurven auf einem allerdings verhältnismäßig kleinen, aber um so genauer behandelten Material zu errichten. Daß *Ehrich* eine ganz andere Kurve über die Anzahl der Sekundärknötchen erhalten hat als *A. und H. Sjövall*, kann natürlich auf Verschiedenheiten in den Versuchen selbst beruhen (z. B. verschiedenem Virus), aber die Ursache kann auch mit wenigstens gleich großer Wahrscheinlichkeit in den verschiedenen Methoden zu suchen sein, nach denen die Anzahlberechnungen vorgenommen worden sind.

Zusammenfassung.

Bei experimenteller Staphylokokkeninfektion im einen Unterschenkel von Kaninchen zeigt ein Vergleich zwischen den Kniekehlenlymphknoten der infizierten und der nicht infizierten Seite folgendes:

Das Gewicht des infizierten Lymphknotens ist in der Regel größer. Der Unterschied ist nach einer Infektionszeit von 10—12 Tagen größer als nach 17 Tagen. Die Lymphknotenanschwellung nach der Infektion ist in diesem Falle ganz oder teilweise verschwunden.

Von den verschiedenen Gewebearten zeigt das Sekundärknötchengewebe die größte relative Zunahme. Rinde und Mark zeigen dagegen untereinander in dieser Hinsicht wechselnde Verhältnisse.

Die Anzahl der Sekundärknötchen nimmt bedeutend zu, und dies ob man nun sog. solide Sekundärknötchen (*Ehrich*) mitzählt oder nicht. Die Zunahme beruht indessen im wesentlichen auf einer Vermehrung von Sekundärknötchen mit heller Mitte, während die soliden Sekundärknötchen bald eine Vermehrung, bald eine Abnahme aufweisen. Auch der durchschnittliche Durchmesser der Sekundärknötchen nimmt zweifellos im Zusammenhang hiermit zu.

Der nicht infizierte Lymphknoten zeigt keine Zeichen einer Reaktion, was zusammen mit den Gewichtsverhältnissen der Milz darauf hindeutet, daß es zu keiner allgemeinen Beeinflussung des lymphatischen Gewebes gekommen ist. Die Infektion blieb mit anderen Worten örtlich beschränkt, ohne Zweifel auf Grund der Schutzarbeit des Lymphknotens.

Laut meiner Ansicht sind gewisse Stützen für die Auffassung zutage gekommen, daß die sog. soliden Sekundärknötchen eine Vorstufe für die Sekundärknötchen mit heller Mitte darstellen können.

Schrifttum.

- Ehrlich, W.*: Amer. J. Anat. **43**, 347—383 u. 384—401 (1929); J. exper. Med. **49**, 347—360 u. 361—385 (1929); Beitr. path. Anat. **86**, 287—368 (1931). — *Flemming, W.*: Arch. mikrosk. Anat. **24**, 50—91 (1885). — *Groll, H.* u. *F. Krampf*: Zbl. Path. **31**, 145—159 (1920). — *Heilmann, P.*: Virchows Arch. **259**, 160—178 (1926). — *Hellman, T.*: Uppsala Läk. för. Förh. **24**, 283—316 (1919); Beitr. path. Anat. **68**, 333—363 (1921). — Lymphgefäße, Lymphknötchen, Lymphknoten. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen (v. *Möllendorff*), Bd. 6,1, S. 233—396 (1930). — *Hellman, T.* u. *G. White*: Virchows Arch. **278**, 221—257 (1930). — *Hoepke, H.*: Verh. anat. Ges., Verslg in Breslau 1931, S. 220—228 (1931). *Rotter, W.*: Virchows Arch. **265**, 596—616 (1927). — *Sjövall, A.* u. *H. Sjövall*: Virchows Arch. **278**, 258—283 (1930). — *Wätjen, J.*: Zbl. Path. **36**, 234 (1925); Virchows Arch. **256**, 86—116 (1925); **271**, 556—571 (1929).
-