

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Kiel  
(Direktor: Prof. Dr. K. LENNERT)

## Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotens\*

### V. Mitteilung

#### Saure Phosphatase in Schnitt und Ausstrich

Von

K. LENNERT, L.-D. LEDER und H. LÖFFLER\*\*

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. Oktober 1964)

Im Rahmen unserer Mitteilungsreihe über fermenthistochemische Untersuchungen am menschlichen Lymphknotengewebe haben wir bisher über die alkalische Phosphatase [LENNERT, LÖFFLER und LEDER (1)], die Adenosintriphosphatase und 5-Nucleotidase (LENNERT und RINNEBERG, RINNEBERG und LENNERT) sowie die unspezifische Esterase (LENNERT, LÖFFLER und GRABNER) berichtet.

Wir haben seit Anbeginn unserer fermenthistochemischen Lymphknotenstudien auch die saure Phosphatase mit untersucht und einen Teil der Ergebnisse bereits kurz zusammenfassend dargestellt (LENNERT, LÖFFLER und LEDER). Diese Ergebnisse wurden zumeist mit der alten Azofarbstoffmethode (mit  $\alpha$ -Naphthylphosphat als Substrat und mit Echtblausalz B oder Echtgranatsalz GBC als Kupplungssalz) gewonnen. Inzwischen steht uns aber seit der Einführung des hexazotierten Pararosanolins durch DAVIS und ORNSTEIN eine Kupplungssubstanz zur Verfügung, mit der eine wesentlich exaktere Lokalisation der Fermentaktivität möglich ist als dies früher der Fall war.

Mit dieser neuen Kupplungssubstanz überprüften und ergänzten wir unsere Befunde und berichten heute zusammenfassend über alle Ergebnisse, die wir an Lymphknotenschnitten und -tupfpräparaten erzielen konnten.

### Untersuchungsgut und Methoden

Zur Untersuchung kamen 128 lebensfrische Lymphknoten, die zu diagnostischen Zwecken excidiert worden waren. Die mit der üblichen histologischen Technik gestellten Diagnosen sind aus Tabelle 1 ersichtlich. Von den Lymphknoten wurden sofort nach der Excision Tupfpräparate und 10  $\mu$  dicke Kryostatschnitte angefertigt.

Zuerst wandten wir eine von GOMORI angegebene Nachweismethode (Substrat  $\alpha$ -Naphthylphosphat; Kupplungssalz: Echtblausalz B; pH 5,0) sowie das auf GÖSSNER zurückgehende Verfahren von LÖFFLER und BERGHOF (Substrat:  $\alpha$ -Naphthylphosphat; Kupplungssalz: Echtgranatsalz GBC; pH 6,3) an.

Später benutzen wir eine Modifikation (LEDER und NICOLAS) des von GOLDBERG und BARKA angegebenen Verfahrens: Je sechs Tropfen einer 4%igen wäßrigen Natriumnitritlösung und einer 4%igen Lösung von Pararosanolin in 2n HCl wurden miteinander vermischt und nach eingetretener Hexazotierung (etwa 1 min später) mit 30 ml 0,1 Michaelispuffer vom

\* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

\*\* Herrn Professor Dr. E. UEHLINGER zum 65. Geburtstag in Dankbarkeit und Verehrung.

pH 7,62 verdünnt. Dadurch entstand ein pH von 4,9—5,1. Diesem Gemisch setzten wir 10 mg Naphthol-AS-BI-Phosphat in 1 ml Dimethylformamid zu. In das filtrierte Inkubationsgemisch wurden die Kryostatschnitte für 30—60 min eingestellt. Die Tupppräparate wurden

Tabelle 1. *Untersuchungsgut*

Diagnose	Zahl der untersuchten Fälle
„Unspezifische Lymphadenitis“	37
Piringersche Lymphadenitis .	8
Lues I und II . . . . .	2
Tuberkulose . . . . .	7
Sarkoidose . . . . .	9
Lymphogranulomatose . . . .	26
Lymphosarkom . . . . .	11
Monocytenleukämie* . . . .	2
Morbus Brill-Symmers . . . .	2
Retikulosarkom und maligne	
Retikulose . . . . .	10
Carcinommetastasen . . . . .	14
Insgesamt	128

\* Autoptisch untersucht.

vor der Inkubation 30 sec in 60%igem Aceton bei 4° C fixiert (LÖFFLER und BERGHOFF), luftgetrocknet und 60—180 min in dem Reaktionsgemisch belassen. Nach der Inkubation wurden die Präparate in Leitungswasser gut abgespült, in Hämalaun gegengefärbt, gebläut und in Gelatinol eingedeckt. Fermentpositive Strukturen stellten sich leuchtend rot dar und kontrastierten gut zu den blau gefärbten Kernen.

Mit allen drei Azofarbstoffmethoden erhielten wir im wesentlichen übereinstimmende Befunde, jedoch lieferte die Modifikation des von GOLDBERG und BARKA beschriebenen Verfahrens bei weitem die besten morphologischen Ergebnisse. Aus diesem Grunde beziehen sich die folgenden Ausführungen sowie die Abbildungen, wenn nicht anders vermerkt, auf die mit der letztgenannten Methode erhobenen Befunde.

## Ergebnisse

### I. Saure Phosphatase im Lymphknotenschnitt (Tabelle 2)

37 unserer untersuchten Lymphknoten ergaben die Diagnose „*unspezifische Lymphadenitis*“. Dabei bestand in vielen Fällen ein ausgeprägter Sinuskatarrh.

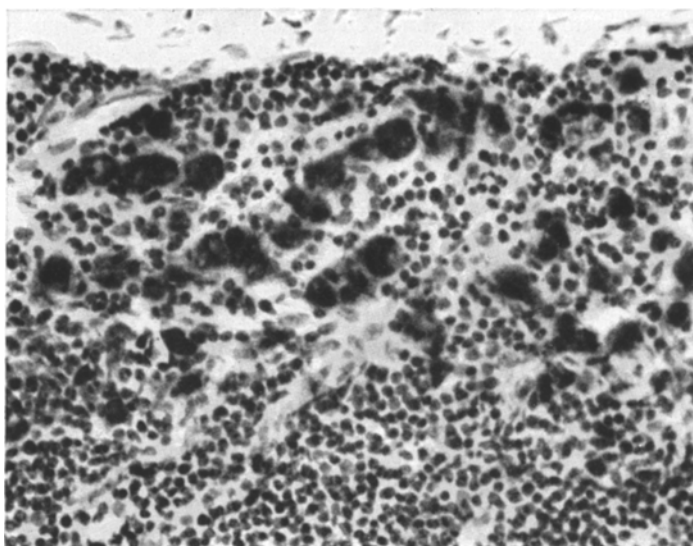


Abb. 1. Positive Retothelien in einem Randsinus bei unspezifischer Lymphadenitis. Vergr. 250mal

Hier stellten sich vor allem die erweiterten Sinus als stark positive Stränge dar, so daß die Reaktion oft schon makroskopisch zu erkennen war. Träger dieser intensiven Reaktion waren die freiliegenden, rundlichen oder plump-ovalen Sinuszellen (Abb. 1, 2a). Sehr häufig fand sich in diesen Zellen neben einer diffusen Plasma-

anfärbung eine große Zahl feiner Farbgranula (Abb. 3a und b). Bei stärkster Vergrößerung zeigten diese Granula teilweise ein helles Zentrum, um das sich der Farbstoff schalenartig angeordnet hatte. Im Gegensatz zu den abgelösten Sinuszellen zeigten die wandständigen Retothelien eine geringere Aktivität. Dies wurde besonders an solchen Lymphknotenbezirken deutlich, in denen kein Sinuskatarrh bestand und die Sinus nicht entfaltet waren.

Die Reticulumzellen der Pulpa wiesen ebenfalls eine deutliche Aktivität von saurer Phosphatase auf (Abb. 9a). Die Stärke der Reaktion erreichte jedoch die der abgelösten Sinusretothelien nicht. In den Sekundärknötchen waren die Kerntrümmerphagen sehr kräftig angefärbt (Abb. 4). Sie übertrafen in ihrer Aktivität die Reticulumzellen der Pulpa und erreichten etwa den Reaktionsgrad der abgelösten Sinusretothelien. Auch hier fanden wir neben einer diffusen Plasmaanfärbung eine granuläre Reaktion. Die Germinoblasten der Keimzentren waren negativ, jedoch beobachteten wir vielfach zwischen den Keimzentrumszellen geringgradige Ablagerungen von Reaktionsprodukt. Dieser Befund wurde besonders in Präparaten ohne Kerngegenfärbung deutlich: Man sah ein Netz von farbstoffhaltigen feinen Strängen, in dessen Maschen die Germinoblasten lagen (Abb. 4).

Die Gewebsmastzellen ließen bei Anwendung der Methode nach LÖFFLER und BERGHOFF lediglich einige wenige rotbraune Granula im Plasma erkennen. Bei Verwendung von hexazotiertem Pararosanilin und Naphthol-AS-BI-Phosphat färbten sie sich zart rosa an, dabei waren die Zentren der Granula als helle Bezirke zu erkennen. Eine stärkere Reaktion wurde mit  $\alpha$ -Naphthylphosphat als Substrat und hexazotiertem Pararosanilin oder Echtblausalz B als Kupplungssalz erzielt. Hierbei zeigten die Granula eine distinkte braunrote bzw. orangerote Anfärbung.

Von den weiteren bei unspezifischer Lymphadenitis vorkommenden Zellelementen zeigten die Fibroblasten bzw. Fibrocyten der Lymphknotenkapsel und der Trabekel häufig eine schwache Reaktion. Die Endothelien der Venolen stellten sich ebenfalls oft schwach positiv dar, dagegen waren die Endothelien der Arteriolen und der Capillaren negativ. Gelegentlich konnten wir in den Schnitten auch

Tabelle 2  
*Saure Phosphatase im Lymphknotenschnitt bei Entzündungen und Lymphogranulomatose*

Lymphknotenstrukturen und Zelltypen	Reaktionsstärke
Primär- und Sekundärfollikel	
Germinoblasten . . . . .	Ø
Lymphocyten . . . . .	Ø
Reticulumzellen . . . . .	+ bis ++
Kerntrümmerphagen . . . . .	+++
Pulpa	
RHS-Zellen . . . . .	+ bis ++
Epitheloidzellherde . . . . .	(+) bis ++
Gewebsmastzellen . . . . .	(+)
Restgewebe . . . . .	Ø
Sinus	
Retothelien . . . . .	+++
Sinushistiocytosezellen . . . . .	Ø
Eos. u. neutr. Granulocyten . . . . .	(+)
Gewebsmastzellen . . . . .	(+)
Gefäße . . . . .	Ø bis (+)
Fibroblasten . . . . .	Ø bis (+)
Tuberkel	
Epitheloidzellen . . . . .	+ bis ++
Langhanssche Riesenzellen . . . . .	+++
Tuberkulöse Käseherde	
Epitheloidzellen . . . . .	+ bis ++
Langhanssche Riesenzellen . . . . .	+++
Verkästes Gewebe . . . . .	Ø bis (+)
Hodgkinzellen . . . . .	Ø bis (+)
Sternbergsche Riesenzellen . . . . .	Ø bis (+)

Plasmazellen identifizieren. Sie zeigten meist eine schwache, diffuse Rotfärbung ihres Zelleibes, die häufig in Kernnähe etwas stärker ausgeprägt war.

Bei je einem Falle von *Lues I und II* wurden die gleichen Befunde wie bei unspezifischer Lymphadenitis erhoben. In der Kapsel des sekundär-luisch ver-

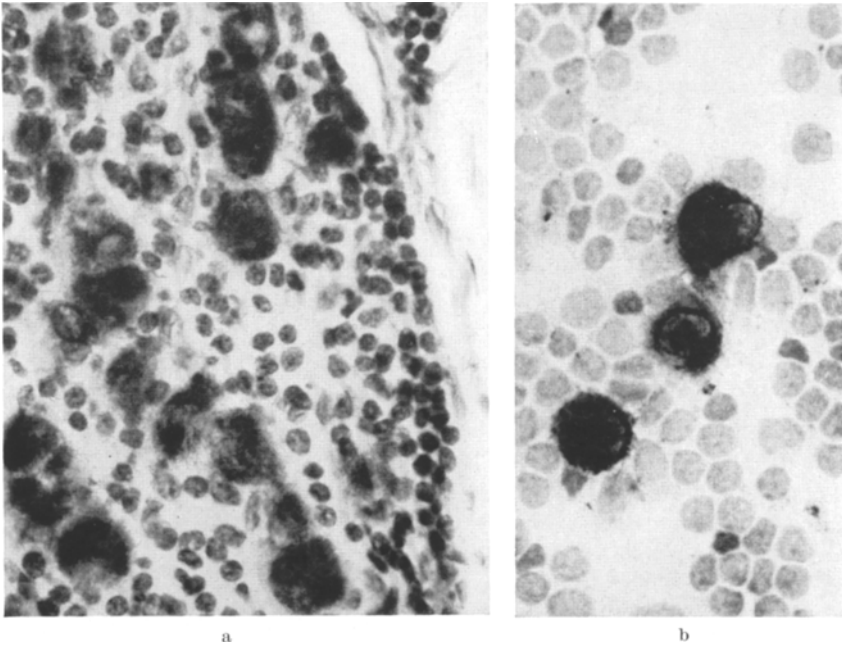


Abb. 2a u. b. Sinusretiothelien im Schnittpräparat nach 60 min Inkubation (a) und im Ausstrich nach 180 min Inkubation (b). Unspezifische Lymphadenitis. Vergr. 500mal

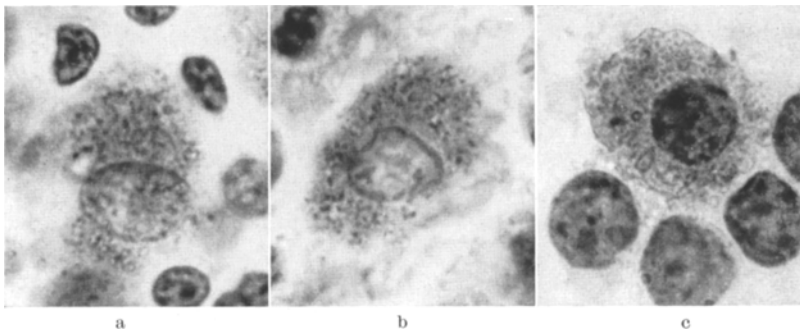


Abb. 3. a und b Sinusretiothelien mit feinkörniger Reaktion im Cytoplasma; Schnittpräparat; 30 min Inkubation. c Gewebsmastzelle im Ausstrich; 180 min Inkubation. Unspezifische Lymphadenitis. Vergr. 1400mal

änderten Lymphknotens fanden wir mehrere Lanhanssche Riesenzellen mit kräftiger Aktivität von saurer Phosphatase.

Bei *Piringerscher Lymphadenitis* verhielten sich die schon bei der unspezifischen Lymphadenitis erwähnten Strukturen gleich. Darüber hinaus war eine deutliche Vermehrung fermentaktiver Reticulumzellen erkennbar. Die für die Piringersche Lymphadenitis charakteristischen Epitheloidzellherdchen waren

schwach bis deutlich positiv. Das Plasma der Epitheloidzellen enthielt meist in Kernnähe einen runden, nicht ganz scharf abgegrenzten Bezirk mit besonders starker Reaktion, während das übrige Plasma nur schwach oder gar nicht reagierte. Die Zellen der unreifen Sinushistiocytose [LENNERT (2)] waren im Gegensatz zu den abgelösten Sinusretothelien negativ und daher leicht von diesen abzugrenzen.

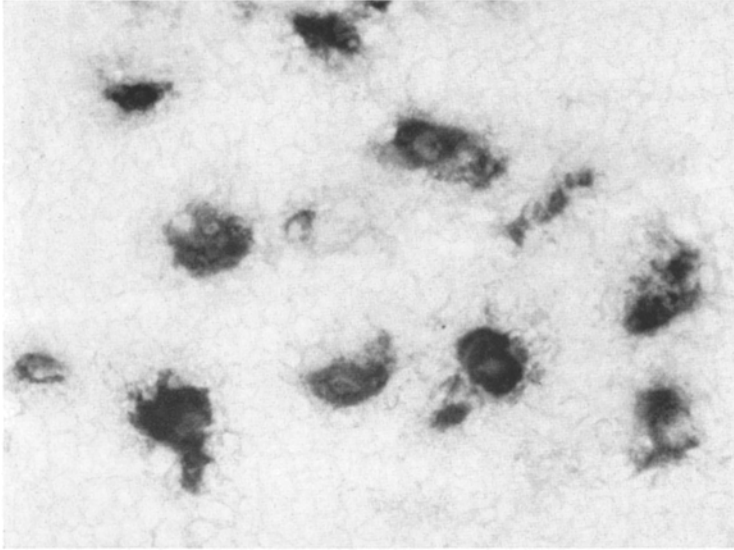


Abb. 4. Ausschnitt aus einem Keimzentrum. Kerntümmerphagen stark positiv. Germinoblasten negativ, zwischen ihnen ein feines Netz positiver Reaktion. Piringerische Lymphadenitis. Vergr. etwa 500mal

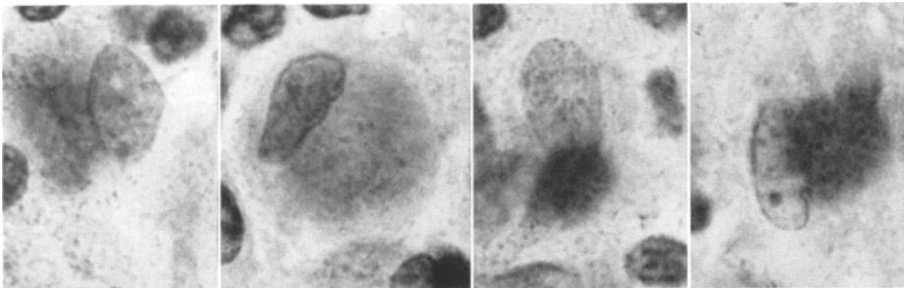


Abb. 5. Vier Epitheloidzellen im Schnittpräparat mit typischer juxtanucleärer Reaktion bei epitheloidzelliger Lymphknotentuberkulose. Vergr. 1400mal

Bei *epitheloidzelliger Tuberkulose* und *Sarkoidose* wurden übereinstimmende Befunde erhoben. Die Epitheloidzellen boten eine deutliche Reaktion, die jedoch nicht die Reaktionsintensität der Pulpa-Reticulumzellen oder gar der Kerntümmerphagen und Sinusretothelien erreichte. Wie bei der Piringerischen Lymphadenitis waren die Epitheloidzellen nicht gleichmäßig angefärbt, sondern enthielten ein perinucleäres, rundliches Plasmaareal mit besonders starker Reaktion bei geringer bis fehlender Anfärbung der übrigen Plasmabezirke (Abb. 5). In Tuberkeln mit nekrobiotischen Zentren waren die der Nekrobiosezone anliegenden Epitheloidzellen etwas stärker positiv, dagegen boten die am Rande der Tuberkel befindlichen „dürren“ Epitheloidzellen eine abgeschwächte Reaktion.

Die Langhansschen Riesenzellen ließen sehr reichlich saure Phosphatase nachweisen (Abb. 6) und übertrafen ihre einkernigen Vorläufer zumeist bei weitem. Das Ferment war in einem großen rundlichen, nicht ganz scharf abgegrenzten Plasmaareal im Zentrum der Riesenzellen lokalisiert. Diesem Areal waren die

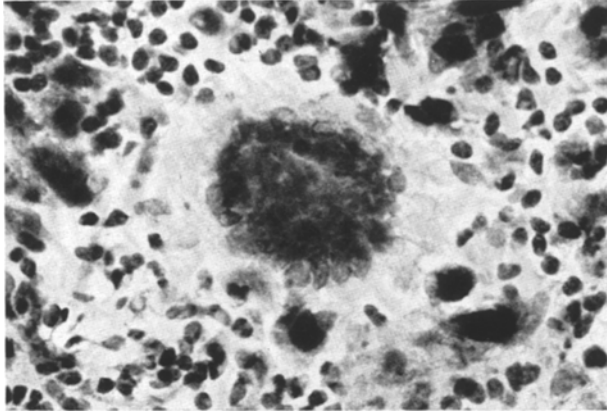


Abb. 6. Langhanssche Riesenzelle mit charakteristischer, in Zellmitte gelegener Reaktion. Vergr. etwa 500mal

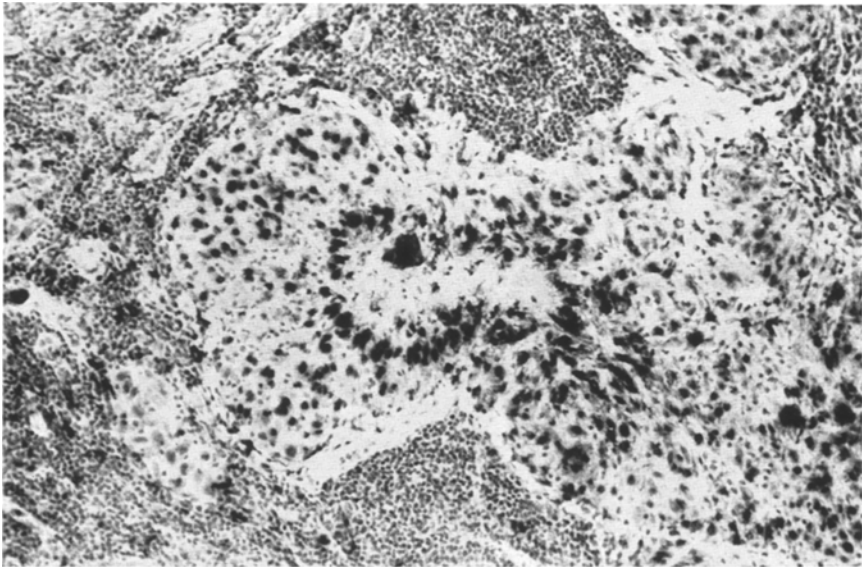


Abb. 7. Verkésey Konglomerattuberkel. Die der Verkäsungszone anliegenden Epitheloidzellen sind deutlich stärker positiv. Vergr. etwa 125mal

Kerne dicht angelagert. In den peripheren Plasmaabschnitten der Riesenzellen war außerhalb des Kernkranzes nur wenig oder gar keine Aktivität von saurer Phosphatase vorhanden. Die übrigen cellulären Elemente des Restlymphknotengewebes reagierten wie bei unspezifischer Lymphadenitis.

Auch in den Fällen von *verkäsender Tuberkulose* wiesen die Epitheloidzellen in Kernnähe ein besonders stark angefärbtes Plasmaareal auf. Manchmal sahen wir eine granuläre Reaktion, wie wir sie besonders bei den abgelösten Sinusretothelien

beobachten konnten. Die den Käseherden dicht anliegenden Epitheloidzellen waren häufig stärker positiv (Abb. 7). Die Käsemassen selbst färbten sich teilweise geringgradig an. Das noch erhaltene Lymphknotengewebe wies keine Besonderheiten auf.

In der Kapsel eines Lymphknotens mit dem Befund eines Reticulosarkomes fanden wir ein Fremdkörpergranulom. Hier färbten sich die Fremdkörperriesenzellen exzessiv an. Die Reaktion der Fremdkörperriesenzellen war die stärkste, die wir bei unseren Untersuchungen beobachteten.

In den Fällen von frischer *Lymphogranulomatose* wurde die Zerstörung der Lymphknotenstruktur durch eine sehr starke Vermehrung von kräftig reagierenden Reticulumzellen offenbar. Die Schnitte fielen schon makroskopisch durch

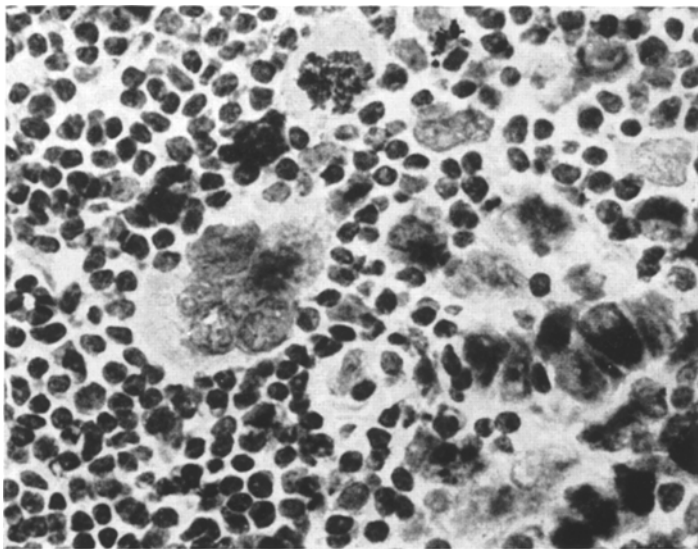


Abb. 8. Sternbergsche Riesenzelle mit zentral positiver Reaktion. Vergr. etwa 500mal

ihre intensive Anfärbung auf. Diese Reticulumzellvermehrung betraf jedoch nicht das gesamte Lymphknotenparenchym gleichmäßig, sondern die Reticulumzellen waren in unregelmäßigen Gruppen und Herden angeordnet. Die bei M. Hodgkin oft vorkommenden Plasmazellen waren vielfach schwach positiv und glichen den bei unspezifischer Lymphadenitis gefundenen. Häufig sahen wir in der Kapsel von lymphogranulomatös veränderten Lymphknoten kräftig positive Zellen mit unregelmäßig gestaltetem, fein gezeichnetem Kern. Wir halten diese Zellen für Histiocyten bzw. Makrophagen. In Hodgkin-Fällen mit stärkerer Vernarbung fanden sich in den noch floriden Herden ebenfalls zahlreiche positive Reticulumzellen. Die Fibrocyten des Narbengewebes reagierten schwach bis deutlich positiv. Verglichen mit den Reticulumzellen boten die Hodgkinzellen und die Sternbergschen Riesenzellen insgesamt eine deutlich geringere Aktivität von saurer Phosphatase. Häufig war in diesen Zellen gar keine oder nur eine angedeutete Anfärbung zu sehen, hin und wieder fanden sich jedoch auch stärker positive Hodgkin- und Sternbergzellen. Auch diese Elemente zeichneten sich in vielen Fällen durch ein Plasmaareal besonders starker Aktivität aus, welches bei den mehrkernigen Zellen meist zentral lag und von den Kernen umsäumt wurde (Abb. 8).

Zwei Fälle von *Paragranulom* boten insofern Besonderheiten, als in dem einen Fall ein besonderer Reichtum an Epitheloidzellen vorlag und in beiden Fällen Riesenzellen vom Langhansstyp vorhanden waren. Weder die Epitheloidzellen noch die Riesenzellen waren morphologisch oder durch ihren Gehalt an saurer Phosphatase von tuberkulösen Epitheloidzellen bzw. Langhansschen Riesenzellen zu unterscheiden. In einem Fall von Hodgkin-Sarkom fand sich eine hochgradige, diffuse Vermehrung phosphatasepositiver Reticulumzellen. Die in großer Menge vorkommenden Hodgkin- und Sternbergzellen waren zum überwiegenden Teil negativ, nur einige der Zellen besaßen eine geringgradige Aktivität von saurer Phosphatase.

Unsere Fälle von *Reticulosarkom* wiesen im Bereiche der Sarkomzellherde sämtlich eine sehr starke Vermehrung positiver Reticulumzellen auf (Abb. 9c).

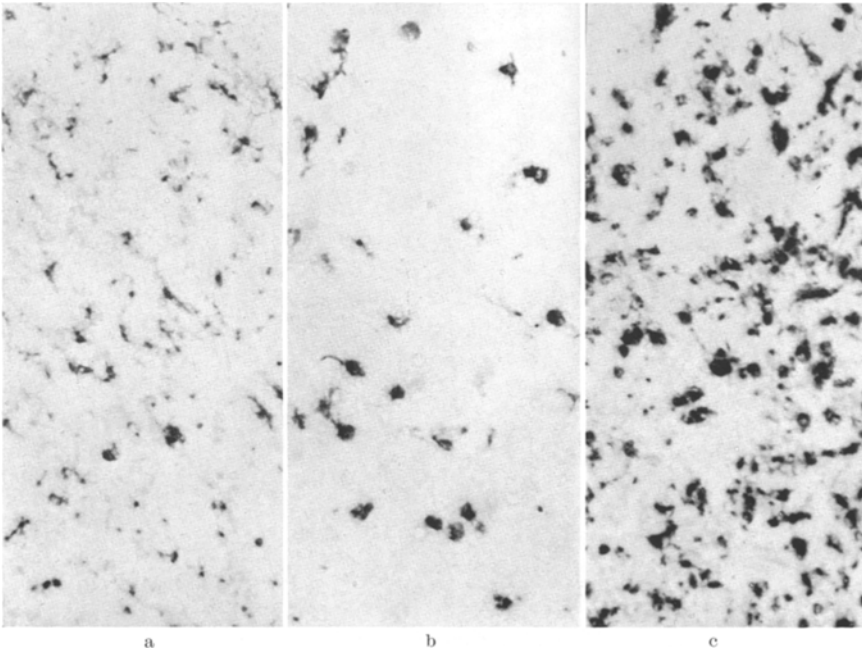


Abb. 9 a—c. Gehalt des Lymphknotengewebes an positiven Reticulumzellen bei unspezifischer Lymphadenitis (a), Lymphosarkom (b) und Reticulosarkom (c). Vergr. 125mal

Die Stärke der Reticulumzellvermehrung entsprach etwa der bei M. Hodgkin beobachteten, doch waren die Reticulumzellen gleichmäßiger verteilt. Sie enthielten häufig phagocytierte Kerntrümmer. Die in der Überzahl vorhandenen unreifen Zellen, die im Giemsa-Präparat ein basophiles Plasma zeigten, waren größtenteils fermentinaktiv. Nur hin und wieder waren diese Zellen ganz schwach angefärbt.

Bei den zwei Fällen von *großfollikulärem Lymphoblastom* (BRELL-SYMMERS) fanden sich zwischen den Tumorzellen positive Reticulumzellen von wechselnder Anzahl. Die Tumorzellen selbst waren negativ bis ganz schwach positiv. Eine Darstellung der follikulären Strukturen gelang beim Nachweis der sauren Phosphatase nicht.

Die Tumorzellen der *Lymphosarkome* waren negativ. Zwischen ihnen sahen wir sternförmig verzweigte positive Reticulumzellen. Ihre Zahl war gegenüber der Norm und im Gegensatz zum Reticulosarkom und zum M. Hodgkin stark vermindert (Abb. 9b), so daß sich die Schnitte makroskopisch nur schwach anfärbten. Auch hier hatte ein Teil der positiven Reticulumzellen Kerntrümmer



phagocytiert. In einem Falle von Lymphosarkom fanden sich an einigen Stellen unter der noch schattenhaft erkennbaren Lymphknotenkapsel stark positive abgerundete Sinusretothelien. Dadurch waren die noch erhaltenen Abschnitte des Randsinus gekennzeichnet. Außerhalb der alten Lymphknotenkapsel lag wiederum Sarkomgewebe. Aus diesem Befund ließ sich das infiltrierend-destruierende Wachstum des Lymphosarkomes gut ablesen.

In zwei Fällen von *maligner Retikuloze* waren die basophilen „Tumorzellen“ schwach positiv bis negativ, zwischen ihnen lagen mäßig reichlich positive, nicht basophile Reticulumzellen.

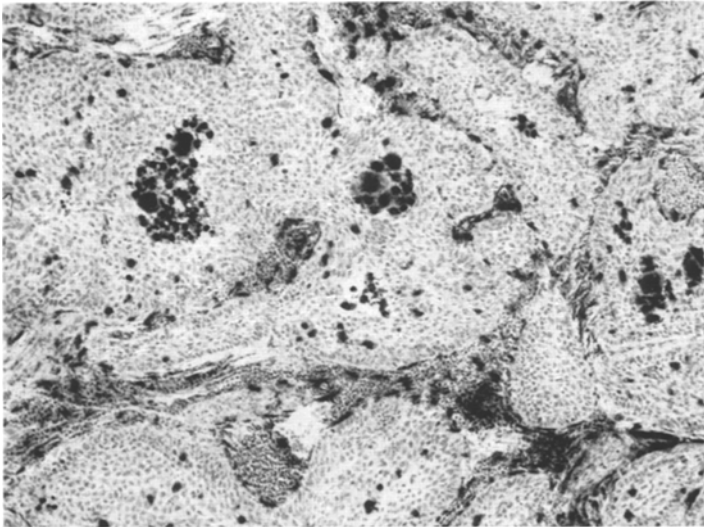


Abb. 10. Lymphknotenmetastase eines Plattenepithelcarcinomes. Vor allem in den zentralen Nekrosen zahlreiche zum Teil mehrkernige, stark positive Makrophagen. Vergr. etwa 50mal

Zwei Fälle von *Monocytenleukämie* untersuchten wir autopsisch. Die Lymphknoten enthielten nur mäßig viele neoplastische Monocyten, die insbesondere im Bereiche der Randsinus lagen. Die Blutgefäße waren dagegen strotzend mit leukämischen Monocyten gefüllt. Ein großer Teil der Monocyten bot eine deutliche Reaktion, die Reaktionsstärke lag aber weit unterhalb der Fermentaktivität der Pulpa-Reticulumzellen und der Sinusretothelien. Von beiden Fällen untersuchten wir auch Femurmark. Hier war der gesamte Markraum von der neoplastischen Zellwucherung eingenommen, Fettzellen fehlten vollständig. Außer den schwach reagierenden leukämischen Monocyten fanden wir im Knochenmark nur noch stark positive Reticulumzellen.

Schließlich untersuchten wir insgesamt 15 Lymphknoten mit *Carcinommetastasen*. Der überwiegende Teil stellte Absiedelungen von Plattenepithelcarcinomen dar. Die drei restlichen Fälle waren Metastasen eines Mammacarcinomes, eines Adenocarcinomes unklarer Herkunft und eines papillären Adenocarcinomes der Schilddrüse. Die Carcinomzellen selbst reagierten unterschiedlich. In den Zellen der Plattenepithelcarcinome, des Adenocarcinomes und des Mammacarcinomes fanden wir nur eine geringgradige bis negative Reaktion. Die Zellen des papillären Schilddrüsenadenocarcinomes waren dagegen positiv. Bei allen Carcinommetastasen

enthielt das Stroma reichlich, oft sogar sehr viele stark positive Makrophagen, zum Teil auch Riesenzellen vom Fremdkörpertyp. Dieser Befund war besonders in den Fällen von Plattenepithelcarcinom ausgeprägt. Hier fanden sich auch — ebenso wie in den Lumina des papillären Adenocarcinomes der Schilddrüse — innerhalb nekrotisch zerfallener und verflüssigter Tumorzellkomplexe große, plasmareiche, abgerundete, zum Teil mehrkernige Zellen mit phagocytiertem Detritus (Abb. 10). Diese Zellen ließen sehr reichlich saure Phosphatase nachweisen, oft reichlicher als Langhanssche Riesenzellen. Daß es sich hierbei nicht um abgeschilferte Tumorzellen handelt, geht aus dem signifikanten Unterschied in der Reaktionsstärke hervor: Während die Tumorzellen allenfalls schwach positiv

Tabelle 3. Saure Phosphatase in den Zellen des Lymphknotenausstriches

Zellart	Reaktionsstärke
Germinoblasten . . . . .	Ø
Lymphocyten . . . . .	Ø bis (+)
Plasmazellreihe . . . . .	Ø bis +
Reticuläre Reizzellen . . . .	Ø bis (+)
Histiocyten . . . . .	Ø bis +
Reticulumzellen . . . . .	++
Sinusretothelien . . . . .	+++
Epitheloidzellen . . . . .	+ bis ++
Kerntrümmerphagen . . . .	+++
Neutrophile . . . . .	(+)
Eosinophile . . . . .	+
Gewebsmastzellen . . . . .	(+)
Basophile Stammzellen . . .	Ø
Hodgkinzellen . . . . .	Ø bis (+)
Sternbergsche Riesenzellen . .	Ø bis (+)

waren, war die Reaktion der Phagocyten ganz erheblich stärker. Auch innerhalb der aus intakten Tumorzellen bestehenden Umgebung solcher Nekrosebezirke fanden sich einzelne Makrophagen mit starker Reaktion. Endlich beobachteten wir in einigen Fällen von Carcinommetastasen eine Plasmocytose im erhaltenen Restgewebe des befallenen Lymphknotens. Die Plasmazellen reagierten auch hier schwach bis deutlich positiv und konnten von den bei unspezifischer Lymphadenitis oder bei M. Hodgkin beobachteten nicht unterschieden werden. Die übrigen Lymphknotenstrukturen zeigten keine weiteren Besonderheiten.

II. Saure Phosphatase im Lymphknotenausstrich (Tabelle 3)

Die nachfolgenden Befunde sind mit den Methoden nach LÖFFLER und BERGHOF sowie nach GOLDBERG und BARKA erhoben worden. Mit dem von GOMORI angegebenen Kupplungsverfahren zum Nachweis der sauren Phosphatase konnten wir im Lymphknotenausstrich keine verwertbaren Ergebnisse erzielen.

Der Differenzierung der einzelnen Zellelemente im fermentcytochemischen Präparat haben wir die Klassifizierung nach LENNERT zugrunde gelegt. Diese wurde an Pappenheim-gefärbten Präparaten erarbeitet [LENNERT (2)]. Da im fermentcytochemischen Präparat außer den Zellkernen lediglich fermentpositives Zellplasma dargestellt ist, kann die Zuordnung der einzelnen Zellelemente zu den Zellklassen des Pappenheim-Präparates mitunter unmöglich sein. Anhand parallel gefärbter Pappenheim-Präparate konnten wir jedoch die meisten Zellen der fermentcytochemischen Ausstriche differenzieren, nur ein kleiner Teil ließ sich nicht sicher einordnen.

Die stärkste Aktivität an saurer Phosphatase zeigten die Zellen des RHS, und zwar die Sinusretothelien (Abb. 2b), die Kerntrümmerphagen, die Reticulumzellen und die Epitheloidzellen. Sinusretothelien und Kerntrümmerphagen entsprachen sich ungefähr in der Stärke der Aktivität. Beide Zellarten waren vollständig mit Farbstoff überdeckt, so daß manchmal die Kerne nicht mehr deutlich zu erkennen waren. Dagegen waren die Reticulumzellen unterschiedlich stark positiv. Im allgemeinen zeigten auch sie eine kräftige Anfärbung, die aber nicht den Grad der bei den Sinusretothelien und Kerntrümmerphagen beobachteten Reaktion er-

reichte. Es fanden sich aber auch Zellen mit negativer Reaktion, die sich morphologisch nicht von den positiven Reticulumzellen unterscheiden ließen. Außerdem war die Anfärbung der Reticulumzellen nicht regelmäßig, sondern Plasmaareale starker Aktivität wechselten mit solchen geringerer Anfärbung ab. Die Epitheloidzellen waren innerhalb der RHS-Zellgruppe am geringsten aktiv. Häufig zeigten sie — wie auch im Schnittpräparat — ein in Kernnähe gelegenes, rundliches, nicht ganz scharf abgesetztes Plasmaareal mit besonders starker Aktivität, während der übrige Zelleib nur schwach, manchmal gar nicht angefärbt war. Derartige umschriebene Plasmareaktionen sahen wir auch in einem Teil der Reticulumzellen.

Wie im Schnittpräparat fanden sich in vielen Zellen des Lymphknotenausstriches granuläre Farbstoffablagerungen. Die Granula waren verschieden groß, manche von ihnen zeigten ein optisch leeres Zentrum. Besonders reichlich fand sich diese Form der Positivität in den Sinusretothelien, den Kerntrümmerphagen und in den Reticulumzellen, spärlicher in den Epitheloidzellen und in einem Teil der Lymphocyten und Plasmazellen. Auch zwischen den Zellen fielen zahlreiche freiliegende Farbstoffgranula auf. Diese lagen ausnahmslos innerhalb der abgetupften Zellrasen, niemals jedoch außerhalb des leicht angefärbten Serumfilmes der Abklatschstellen.

Die *Histiocyten* und die *reticulären Reizzellen* zeigten wechselnde Befunde. Oft waren diese Zellen schwach angefärbt, einige enthielten etwas mehr Farbstoffpräzipitat, viele waren jedoch auch negativ.

Keine sichere Aktivität konnten wir in den *Germinoblasten* und den *basophilen Stammzellen* nachweisen.

Dagegen enthielt ein Teil der *Lymphocyten* ein oder mehrere Farbstoffgranula in ihrem Plasmasaum. Manchmal konnte man innerhalb der Farbstoffkörnchen eine zentrale Aufhellung erkennen. Wir hatten den Eindruck, daß solche Granula bei den kleinen, dunkelkernigen Lymphocyten häufiger vorkamen als bei den größeren, unreifen Formen. Seltener zeigten die Lymphocyten auch eine schwache diffuse Plasmareaktion.

Die *Plasmazellen* des Lymphknotenausstriches waren im allgemeinen positiv. Dabei zeigten die reiferen Formen meist eine kräftigere Anfärbung als die größeren, jüngeren Zellen der Plasmazellreihe. Die Reaktion war teils diffus, teils granulär. Häufig beobachteten wir eine besonders ausgeprägte Reaktion in Kernnähe, und zwar an der Stelle, an der man gewöhnlich die perinucleäre Aufhellung findet.

Die *Gewebsmastzellen* boten eine schwache Reaktion sowohl bei dem Verfahren von LÖFFLER und BERGHOF als auch bei der Modifikation der Methode von GOLDBERG und BARKA. Bei dem letzten Verfahren (Abb. 3c) erhielten wir eine feine, zart rote Reaktion. Dabei waren die Granula als hellere Gebilde gut erkennbar. Wir konnten nicht sicher entscheiden, ob der Farbstoff an der Granulaoberfläche lokalisiert war oder ob er zwischen den Granula lag.

Die *neutrophilen* und *eosinophilen Granulocyten* verhielten sich wie im peripheren Blutaussstrich. Beide Zellrasen ließen eine geringgradige Aktivität von saurer Phosphatase erkennen, wobei die Eosinophilen etwas stärker reagierten. Basophile Granulocyten konnten wir nicht identifizieren.

In den Tupppräparaten unserer *Lymphogranulomatose*-Fälle zeigten die Hodgkin-Zellen und die Sternbergschen Riesenzellen teils eine geringgradige Anfärbung, teils waren sie negativ. Das Reaktionsprodukt war auch bei diesen Zellen oft nicht

gleichmäßig im Plasma verteilt, sondern zeigte in Kernnähe eine deutliche Konzentration. Die übrigen Zellelemente entsprachen in ihrem Verhalten den schon geschilderten Befunden.

Die Tumorzellen bei den malignen Neoplasien des lymphoreticulären Gewebes (*Lymphosarkom, Leukosarkomatose, großfollikuläres Lymphoblastom, Reticulosarkom, maligne Retikulose*) waren negativ bis schwach positiv. Bei den Reticulosarkomen fiel auch im Ausstrich die starke Vermehrung positiver Reticulumzellen auf. Bei einem Fall von Lymphosarkom war im Schnitt ein Teil der Randsinus mit stark positiven, typischen Sinusretothelien erhalten geblieben. Die Tüpfelpräparate dieses Falles wiesen einige Gruppen von extrem stark positiven Zellen mit weitem plumpem Plasmasaum, feinreticulärem, oft leicht gebuchtetem Kern und vorwiegend granulärer Reaktion auf (Abb. 2b). Diese Zellen besaßen im Gegensatz zu den Reticulumzellen keine Plasmaausläufer. Sie dürften den Sinusretothelen der Schnitte entsprechen. Die Lymphocyten der Lymphosarkome konnten von normalen Lymphocyten in bezug auf ihren Gehalt an saurer Phosphatase nicht unterschieden werden.

Die von den *Carcinommetastasen* stammenden Tüpfelpräparate ergaben keine besonderen, über die Befunde an den Schnitten hinausgehende Beobachtungen. Die Tumorzellen verhielten sich im allgemeinen negativ bis schwach positiv. Nur in den Zellen des papillären Adenocarcinomes der Schilddrüse konnte, wie auch im Schnitt, eine deutliche Anfärbung erzielt werden. Im übrigen enthielten die Präparate zahlreiche stark positive Makrophagen, von denen ein Teil mehrkernig war.

### Diskussion

Die stärkste Reaktion beim Nachweis der sauren Phosphatase fanden wir in phagocytierenden Zellen, nämlich in den Sinusretothelien und in den Kerntrümmerphagen der Keimzentren. Etwas schwächer reagierten zahlreiche Reticulumzellen der Pulpa. Diese drei Zelltypen zeigen auch eine starke Aktivität von unspezifischer Esterase.

Die fermentpositiven RHS-Zellen stellen ganz offensichtlich aktivierte Elemente dar. Dies geht aus dem Verhalten der Sinusretothelien deutlich hervor: Beim Sinuskatarrh entwickeln sich große, plumpe, rundliche, weitplasmatische Zellen mit sehr starker Phosphatase-Aktivität (Abb. 2a), während die normalen, nicht gereizten Sinuswandzellen eine sehr viel geringere Aktivität des Fermentes zeigen. Manchmal sind die letzteren sogar negativ, so daß sie im Fermentpräparat kaum zu identifizieren und von anderen Zellen abzugrenzen sind.

Allerdings beobachteten BARKA, POPPER und SCHAFFNER im Tierversuch eine Aktivitätsminderung der sauren Phosphatase in den RES-Zellen, wenn diese Trypanblau aufnahmen. Daß dieser Befund jedoch auf den *Vorgang* der Trypanblauaufnahme zurückzuführen ist, wie die genannten Autoren meinen, scheint uns nicht sicher zu sein. Es liegt unseres Erachtens näher, die Aktivitätsminderung auf eine toxische Wirkung des Trypanblau zu beziehen, die nach den Speicherversuchen von EHRICH und anderen Autoren angenommen werden kann.

Im Tüpfelpräparat sahen wir immer wieder Zellen, die wir nach rein morphologischen Kriterien als Reticulumzellen ansprechen müssen, die jedoch eine sehr schwache oder keine saure Phosphataseaktivität aufwiesen. Ein Teil dieser negativen Elemente stellt Capillarendothelien oder Fibroblasten dar, wie wir durch den Nachweis von alkalischer Phosphatase in diesen Zellen beweisen konnten

[LENNERT, LÖFFLER und LEDER (1)]. Der Anteil dieser Capillarendothelien und Fibroblasten mit positiver alkalischer Phosphatasereaktion ist jedoch relativ gering und sicher nicht so hoch wie nach der Anzahl negativer „Reticulumzellen“ bei der sauren Phosphatasereaktion zu erwarten wäre. Daraus folgt, daß es auch Reticulumzellen ohne nachweisbare Aktivität von saurer Phosphatase gibt. Dies geht weiterhin daraus hervor, daß sich bei der unspezifischen Esterasereaktion zweifellos mehr Reticulumzellen darstellen als beim Nachweis der sauren Phosphatase. Solche negative Reticulumzellen sind als inaktive, ruhende „indifferente“ Reticulumzellen oder als „blastische“ basophile Reticulumzellen, die den Zellnachschieb liefern, anzusehen.

Wir haben schon früher darauf hingewiesen, daß ein Teil der „Reticulumzellen“ des nach PAPPENHEIM gefärbten Präparates wohl Sinusretothelien darstellt. Durch unsere Befunde beim Nachweis der sauren Phosphatase wird diese Auffassung weiter gestützt. Insbesondere der oben beschriebene Lymphosarkomfall (Abb. 2b) hat uns durch die parallele Betrachtung von Schnitt- und Tupfpräparat den Beweis geliefert, daß die großen abgerundeten, stark fermenthaltigen Retothelien größtenteils oder ausschließlich aus den Sinus stammen. Man kann also im Tupfpräparat bei saurer Phosphatasereaktion die Sinusretothelien mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit erkennen (s. auch MORALES-PLEGUEZUELO).

Neben einer diffusen Anfärbung fanden wir in den reticulohistiotischen Zellen der Lymphknotenschnitte, besonders in den Zellen des Sinuskatarrh, häufig eine granuläre Reaktion (Abb. 3a und b). Die Granula besitzen zum Teil ein helles Zentrum, das vom Farbstoff wie von einer Schale umgeben wird. In den Tupfpräparaten sahen wir solche Gebilde auch zwischen den Zellen liegen. Wir glauben nicht, daß es sich dabei um Diffusionsartefakte handelt, da sich die Granula ausnahmslos innerhalb des abgetupften, leicht angefärbten Serumfilmes fanden. Auch Farbstoffkristalle dürften nicht vorliegen; denn die mit hexazotiertem Pararosanilin gebildeten Azofarbstoffe besitzen eine sehr große Lokalisationstreue und neigen außerdem nicht zur Kristallisation (DAVIS und ORNSTEIN). Vielmehr dürften die beschriebenen Gebilde am ehesten korpuskuläre Plasmabestandteile, die von geborstenen Zellen herrühren könnten, darstellen. Wir denken dabei an die Lysosomen, denen einerseits eine reiche Ausstattung mit sauren Hydrolasen zugesprochen wird und die andererseits besonders häufig in phagocytotisch und pinocytotisch aktiven Zellen vorkommen.

Während die phagocytotisch aktiven Zellen des Lymphknotens einen hohen Gehalt an saurer Phosphatase aufweisen, besitzen diejenigen Zellen, denen eine reproduktive Tätigkeit obliegt, kaum oder sehr wenig Aktivität. Dies gilt sowohl für die basophilen Stammzellen als auch für die Germinoblasten. Mit dieser Beobachtung übereinstimmende Befunde konnten wir beim Nachweis der unspezifischen Esterase erheben. Auch BRAUNSTEIN u. Mitarb. fanden keine Hydrolasen in den Keimzentrumzellen. Dagegen sahen wir regelmäßig zwischen den Germinoblasten ein mehr oder weniger stark gefärbtes Netzwerk (Abb. 4), welches besonders deutlich in Schnitten ohne Kernfärbung zutage trat. Ganz entsprechende Befunde wurden beim Nachweis der unspezifischen Esterase (LENNERT, LÖFFLER und GRABNER) sowie beim Nachweis der 5-Nucleotidase (LENNERT und RINNEBERG) erhoben. Wir hielten diese Fermentreaktionen für *intercellulär*. Neueste elektronenmikroskopische Untersuchungen (MARUYAMA) lassen jedoch die Möglichkeit diskutieren, daß mit der Fermentreaktion Ausläufer von extrem weit verzweigten Reticulumzellen dargestellt werden.

Nur geringe Aussagen gestattet die Fermentreaktion bezüglich der sehr heterogenen Gruppe der reticulären Reizzellen, welche teils negativ, teils aber auch schwach positiv

reagierten. Dabei entsprach die Reaktionsstärke zum Teil ungefähr der bei den Blutmonocyten beobachteten Aktivität. Demnach glauben wir, daß ein Teil der reticulären Reizzellen Blutmonocyten darstellen könnte.

Die Plasmazellen des Lymphknotens verhielten sich ganz ähnlich wie die Plasmazellen des Knochenmarkes, die von LÖFFLER und SCHUBERT eingehend untersucht wurden. Vor allem die reifen, kleinen Formen enthielten eine schwache, aber deutliche Aktivität von saurer Phosphatase, besonders im Bereiche der Golgi-Zone. Dieser Befund ist besonders ausgeprägt bei neoplastischen Plasmazellen, wie LÖFFLER und SCHUBERT anhand von Sternalmarkausstrichen bei Plasmocytomen feststellen konnten und wie wir auch an Knochenmarkschnitten von Plasmocytomgewebe beobachteten.

Über das Vorkommen von saurer Phosphatase in menschlichen und tierischen Gewebsmastzellen liegen bereits mehrere Untersuchungen vor. Mit allen von uns angewandten Methoden konnten wir eine geringgradige bis mäßig starke Aktivität nachweisen (Abb. 3 e), die offenbar an die Mastzellengranula gebunden ist. Jedoch schienen die Gewebsmastzellen im Gegensatz zu den anderen Lymphknotenelementen das Substrat Naphthol-AS-BI-Phosphat in geringerem Maße zu spalten als das Substrat  $\alpha$ -Naphthylphosphat.

Bei der in den Tupfpräparaten nachweisbaren granulären Reaktion der Lymphocyten hatten wir den Eindruck, daß es sich auch hier um die Darstellung einzelner besonders fermentreicher Korpuskel handelt. Den gleichen Befund konnten wir auch an Blutlymphocyten (LEDER und NICOLAS) erheben. Bei geeigneter Technik lassen sich beim Nachweis der unspezifischen Esterase ebenfalls solche positiven Gebilde in einem Teil der Lymphocyten darstellen (LEDER und NICOLAS). Im übrigen haben auch GOLDBERG und BARKA, LÖFFLER und BERGHOF sowie BRAUNSTEIN u. Mitarb. in Lymphocyten saure Phosphatase nachweisen können.

Wie bei der unspezifischen Esterasereaktion gelingt es auch beim Nachweis der sauren Phosphatase, die Zellen der unreifen Sinushistiocytose von den Zellen des Sinuskatarrhes abzugrenzen. Während die unreifen Sinushistiocyten keine Aktivität von saurer Phosphatase nachweisen lassen, zählen die Zellen des Sinuskatarrhes zu den am stärksten reagierenden Elementen des Lymphknotens. Vor allem aber geht auch aus diesem Befund hervor, daß die unreife Sinushistiocytose ein eigenständiges pathomorphologisches Substrat darstellt, das nichts mit dem Sinuskatarrh der unspezifischen Lymphadenitis zu tun hat.

Der positive Nachweis von saurer Phosphatase in den Epitheloidzellen stimmt mit den Befunden von GROGG und PEARSE, GÖSSNER sowie BRAUNSTEIN u. Mitarb. überein (Abb. 5, 7). Die Reaktion war aber im wesentlichen auf ein kernnahes relativ gut abgrenzbares Plasmaareal beschränkt, welches wohl mit der Golgi-Zone identisch ist. Dieser Befund war unabhängig davon, bei welchen pathologischen Veränderungen des Lymphknotens die Epitheloidzellen angetroffen wurden.

Die stärkere Reaktion der Epitheloidzellen am Rande von Nekrobiosen und Verkäsungen (Abb. 7) könnte auf eine resorptive Leistung der Epitheloidzellen hinweisen. Im Gegensatz dazu waren die peripher gelegenen Epitheloidzellen der Tuberkel, besonders bei älteren Knötchen, deutlich schwächer positiv. Da sich an solchen Stellen häufig alkalische Phosphatase nachweisen läßt, halten wir es durch-

aus für möglich, daß hier Epitheloidzellen in Fibroblasten umgewandelt werden; denn die letztgenannten Zellen enthalten — insbesondere in Zonen der Faserbildung — reichlich alkalische Phosphatase.

Wie auch GROGG und PEARSE sowie GÖSSNER feststellten, übertreffen die Langhansschen Riesenzellen im allgemeinen die Epitheloidzellen in ihrem Gehalt an saurer Phosphatase beträchtlich. Die Reaktion ist zumeist auf den von den Kernen umgebenen zentralen Teil des Cytoplasma beschränkt (Abb. 7), die wahrscheinlich die vergrößerte Golgi-Zone darstellt. Die starke Aktivität von saurer Phosphatase und auch von unspezifischer Esterase in den Langhansschen Riesenzellen spricht gegen ihre Entstehung aus Endothelien (WURM), da diese zum Teil reichlich alkalische Phosphatase, die anderen beiden Fermente aber nur in geringer Menge enthalten. Außer saurer Phosphatase und unspezifischer Esterase fanden wir auch Adenosintriphosphatase sowie 5-Nucleotidase in den Langhansschen Riesenzellen. Die reiche enzymatische Ausstattung weist darauf hin, daß diese Zellen eine beachtliche Stoffwechselleistung vollbringen. Die Langhansschen Riesenzellen sind daher keinesfalls als Degenerationsformen oder geschädigte Zellen anzusehen, wie dies von manchen Autoren angenommen wird.

Eine zum Teil positive Reaktion in Hodgkin- und Sternbergzellen (Abb. 8) wurde auch von BRAUNSTEIN u. Mitarb. mitgeteilt. Dagegen fand DORFMAN bei sechs untersuchten Fällen keine Aktivität von saurer Phosphatase in den Hodgkin- und Sternbergzellen, während ACKERMAN u. Mitarb. sowie BURSTONE eine besonders starke Reaktion dieser Elemente beschrieben. Die Ursache dieser erheblich divergierenden Befunde ist uns nicht recht erklärlich, wahrscheinlich sind sie im wesentlichen Folge verschiedener Methodik.

Wie bei einem Teil der Reticulumzellen war die Aktivität der sauren Phosphatase in den Hodgkin- und Sternbergzellen häufig auf einen umgrenzten kernnahen Plasmaabschnitt beschränkt (Abb. 8). Die Fermentausrüstung der Hodgkin- und Sternbergzellen entspricht also qualitativ und auch cyttopographisch den Reticulumzellen, lediglich die Stärke der nachgewiesenen Fermentaktivität ist stark verringert.

Diese Befunde sprechen für die Auffassung, daß die Hodgkinzellen sowie ihre mehrkernigen Varianten, die Sternbergschen Riesenzellen, aus Reticulumzellen hervorgehen [s. LENNERT (1)]. Die geringgradige Fermentaktivität der Hodgkin- und Sternbergzellen stimmt ferner mit den Beobachtungen an malignen Geschwülsten überein, bei denen die Tumorzellen ebenfalls in vielen Fällen zwar eine ihrem Muttergewebe ähnliche, aber deutlich verringerte Fermentausrüstung aufweisen. Einen weiteren wichtigen Befund stellt die bei allen unseren Fällen von M. Hodgkin aufgefundene Vermehrung von Reticulumzellen mit hohem Gehalt an saurer Phosphatase dar. Dabei waren diese Reticulumzellen unregelmäßig herdförmig angeordnet. Auch in den Fällen von vernarbter Lymphogranulomatose zeigten die noch floriden Lymphogranulomherde diesen Befund. Selbst ein Fall von Hodgkinsarkom enthielt reichlich positive Reticulumzellen, hier allerdings in mehr gleichmäßiger Verteilung. Während die im Giemsa-Präparat basophilen Zellen unserer Reticulosarkome im allgemeinen negativ oder nur selten schwach positiv reagierten, waren die Sarkomzellen von zahlreichen stark positiven Reticulumzellen untermischt (Abb. 9c). Die letzteren wiesen außer

ihrem hohen Gehalt an saurer Phosphatase auch häufig phagocytierte Kerntrümmer als weiteres Zeichen ihrer Funktionstüchtigkeit auf. Im Gegensatz zum M. Hodgkin war die Verteilung der positiven Reticulumzellen nicht herdförmig, sondern mehr gleichmäßig.

Wir können nach unseren Präparaten keine Entscheidung darüber fällen, ob die enzymhaltigen, nicht-basophilen Reticulumzellen als ausgereifte Tumorzellen oder als „Stromazellen“ anzusehen sind. Die Tatsache, daß diese Zellen einen regelhaften Fermentgehalt besitzen und eine von den Reticulosarkomzellen abweichende, den normalen Reticulumzellen entsprechende Morphologie aufweisen, könnte für die zweite Möglichkeit angeführt werden. Auch das seltene Vorkommen fermentcytochemisch nachweisbarer Übergangsformen zwischen den stark positiven, phagocytosefähigen, basophilen Reticulumzellen und den negativen basophilen Reticulosarkomzellen weist eher darauf hin, daß zwei verschiedene Zellrassen vorliegen.

Im Gegensatz zum Reticulosarkom und zur Lymphogranulomatose zeigten unsere Fälle von Lymphosarkom eine Verminderung der fermentpositiven Reticulumzellen gegenüber der Norm (Abb. 9b). Das gleiche beobachteten REINER, RUTENBERG und SELIGMAN (2). Die Lymphosarkomzellen selbst boten keine Besonderheiten. Den Befund von BRAUNSTEIN u. Mitarb., nach dem die Lymphocyten des Lymphosarkomes („lymphocytic lymphoma“) eine erhöhte Aktivität an saurer Phosphatase nachweisen lassen, vermochten wir nicht zu bestätigen. In den übrigen Fällen von malignen Lymphknotenerkrankungen (M. Brill-Symmers, maligne Reticulose) fanden wir zwischen den negativen bis schwach positiven Tumorzellen nur mäßig reichlich positive Reticulumzellen.

Die beiden Fälle von Monocytenleukämie zeigten nur eine geringgradige Infiltration der Lymphknoten, wobei sich die neoplastischen Monocyten vor allem in den Sinus fanden. Sie reagierten etwas kräftiger als normale Monocyten, die wir bei Entzündungsstudien im Schnittpräparat zu untersuchen Gelegenheit hatten. Ihre Reaktionsstärke war jedoch verglichen mit den Reticulumzellen und Sinusretothelien des Lymphknotens nur gering, worin sie sich von den genannten Zellen ganz erheblich unterschieden. Den gleichen Befund konnten wir auch beim Nachweis der unspezifischen Esterase erheben. Im Vergleich zu den Lymphknoten enthielt das Femurmark massenhaft neoplastische Monocyten, die sich auch hier sowohl im Esterasepräparat als auch beim Nachweis der sauren Phosphatase von den stark positiven Reticulumzellen einwandfrei abgrenzen ließen. Dieses unterschiedliche fermenthistochemische Verhalten von leukämischen wie normalen Monocyten einerseits und den Reticulumzellen sowie Retothelien des RHS andererseits spricht unseres Erachtens dagegen, daß die Monocyten abgelöste RHS-Zellen (Reticulumzellen, Sinusretothelien) darstellen, wie dies von zahlreichen Autoren angenommen wird. Die hochgradige leukämische Infiltration des Knochenmarkes — bei geringer Infiltration der Lymphknoten — könnte dagegen mehr zugunsten einer myeloischen Genese der Monocyten sprechen.

In den Carcinommetastasen zeigten die Carcinomzellen selbst zumeist keine oder nur eine geringgradige Aktivität von saurer Phosphatase. Dies stimmt für die Plattenepithelcarcinome mit den Beobachtungen von REINER, RUTENBURG und SELIGMAN (1) überein, die in ihren Fällen eine Verminderung der Aktivität von saurer Phosphatase gegenüber normalem Plattenepithel feststellten. Lediglich



die Metastase eines papillären Adenocarcinoms der Schilddrüse zeigte in den Tumorzellen eine deutliche Reaktion. Die gleiche Beobachtung wurde von REINER, RUTENBURG und SELIGMAN (2) an vier Fällen von Schilddrüsenkarzinom gemacht.

Bei allen Metastasen fanden wir wie auch BURSTONE sowohl im Stroma als auch in zerfallenem Carcinomgewebe große Mengen sehr stark positiver Zellen, die zum Teil mehrkernige Riesenzellen bildeten (Abb. 10). Diese Zellen sind zweifellos eingewanderte Makrophagen. Das geht aus ihrem Vorkommen innerhalb von Tumornekrosen hervor. Die starke Aktivität dieser Makrophagen kontrastiert deutlich zu den negativen oder geringgradig positiven Tumorzellen und zeigt, daß es sich nicht etwa um abgelöste Carcinomzellen handelt. Darüber hinaus fanden wir auch zwischen den Carcinomzellverbänden bizarr geformte stark positive Makrophagen, die sich offensichtlich auf dem Wege in die Nekrosezone befanden. Es gelingt also mit der sauren Phosphatasereaktion, die im üblichen histologischen Präparat nur sehr schwer von den Tumorzellen abzugrenzenden Makrophagen einwandfrei zu identifizieren. Wir waren überrascht von der Häufigkeit und der großen Zahl dieser Zellen innerhalb von Carcinomen. Vor allem aber macht dieser Befund deutlich, daß bei biochemischen Nachweisen von saurer Phosphatase an Homogenaten von Tumorgewebe positive Ergebnisse nicht ohne weiteres auf die Malignomzellen zu beziehen sind.

Fragen wir noch nach der mutmaßlichen Bedeutung der positiven sauren Phosphatasereaktion: Die saure Phosphatase scheint den Ort des Golgiapparates der Zelle zu markieren. Dies geht nicht nur aus den Untersuchungen von KUFF und DALTON, die an isolierten Golgimembranen saure Phosphatase in großer Menge nachweisen konnten, hervor. Die histochemische Lokalisation der sauren Phosphatase entspricht in Reticulumzellen, Langhansschen Riesenzellen, Hodgkinzellen, Sternbergschen Riesenzellen und Plasmazellen dem Ort und daneben auch der ungefähren Größe des Golgiapparates, wie er sich mit herkömmlichen Methoden und im Elektronenmikroskop darstellt. Die rundlichen Plasmaareale in Reticulumzellen und Epitheloidzellen stimmen zudem mit den Neutralrotrosetten der Supravitalfärbung (AKAZAKI u. Mitarb.) überein.

Es liegt nahe anzunehmen, daß die saure Phosphatase der reticulohistocytären Zellen — wohl entsprechend der Funktion des Golgiapparates — für die Stoffaufnahme und vor allem -verarbeitung verantwortlich ist [LENNERT und LÖFFLER (2)]. Dies schließen auch GEDIGK und BONTKE sowie GEDIGK und FISCHER aus ihren Untersuchungen an Fremdkörpergranulomen. WEISS und FAWCETT sowie GROPP und HUPE diskutieren ebenfalls diese Möglichkeit nach Befunden an Makrophagen der Gewebekultur. Die (geringere) Phosphataseaktivität in den Plasmazellen könnte mit deren sekretorischer Leistung im Zusammenhang stehen, die für den Golgikörper ebenfalls diskutiert wird.

### Zusammenfassung

An 128 menschlichen Lymphknoten mit den verschiedensten pathologischen Veränderungen wurde das Vorkommen von *saurer Phosphatase* mit Azofarbstoffmethoden untersucht. Bei unspezifischer Lymphadenitis findet sich in den Sinusretothelien und den Kerntrümmerphagen der Keimzentren die stärkste Reaktion,

es folgen die Reticulumzellen der Pulpa. Basophile Stammzellen und Germinalblasten sind negativ. Die übrigen Zellarten weisen nur eine geringe Aktivität auf. Nach ihrer sehr starken Aktivität können die Sinusretothelien im Tupfpräparat identifiziert werden. Die Zellen der unreifen Sinushistiocytose bei Piringerscher Lymphadenitis sind durch ihr negatives Verhalten leicht von den stark positiven Retothelien des Sinuskatarrhes abzugrenzen. Die Epitheloidzellen weisen eine kräftige Reaktion auf, besonders in der unmittelbaren Umgebung von Verkäsungen. Die Langhansschen Riesenzellen sind in der Regel stärker enzymaktiv als die Epitheloidzellen. Bei M. Hodgkin und Reticulosarkom ist die Zahl positiver Reticulumzellen stark vermehrt, bei Lymphosarkom vermindert. Hodgkinzellen und Sternbergsche Riesenzellen sind teils negativ, teils deutlich positiv. Dies spricht für ihre Abkunft von Reticulumzellen. Die Tumorzellen der malignen Lymphknotengeschwülste sind negativ oder allenfalls schwach positiv. Carcinommetastasen enthalten in der Regel zahlreiche, zum Teil mehrkernige Makrophagen mit hohem Enzymgehalt.

Die saure Phosphatasereaktion ist im Bereich des Golgiapparates am stärksten ausgeprägt; sie dürfte bei den reticulohistiocytären Zellen Ausdruck starker phagocytotischer und stoffverarbeitender Fähigkeit sein und bei den Plasmazellen mit deren sekretorischer Tätigkeit zusammenhängen.

### Enzyme-Histochemical Studies of the Lymph Node V. Acid Phosphatase in Section and Smear

#### Summary

The occurrence of *acid phosphatase* in 128 human lymph nodes with various pathologic changes was studied using azo dye methods. In non-specific lymphadenitis one finds the most intense reaction in the sinus endothelium and in the nuclear debris phagocytes of the germinal centers; next are the reticulum cells of the pulp. Basophilic stem cells and germinoblasts are negative. The remaining types of cells show only a slight activity. On the basis of their very intense activity, the sinus endothelial cells may be identified in lymph node imprints. The cells of the immature sinus histiocytosis of Piringer's lymphadenitis are, by means of their negative behavior, readily differentiated from the strongly positive endothelial cells of the sinus catarrh. The epithelioid cells disclose a strong reaction, especially in the immediate vicinity of caseation necrosis. The Langhans giant cells are usually more active enzymatically than are the epithelioid cells. In Hodgkin's disease and in reticulum cell sarcoma the number of positive reticulum cells is greatly increased, but in lymphosarcoma decreased. Hodgkin cells and Sternberg giant cells are in part negative, in part clearly positive. This suggests that they are derived from reticulum cells. The tumor cells of malignant neoplasms of lymph nodes are negative or at most weakly positive. Metastatic carcinoma usually contains numerous, in part polynucleated macrophages which have a high enzyme content.

The acid phosphatase reaction is most distinct in the region of the golgi apparatus. In the reticulohistiocytic cells it may indicate an intense phagocytic and metabolic activity and in the plasma cells be related to their secretory activity.

## Literatur

- ACKERMAN, G. A., R. A. KNOUFF, and H. A. HOSTER: Cytochemistry and morphology of neoplastic and non-neoplastic human lymph node cells with special reference to Hodgkin's disease. *J. nat. Cancer Inst.* **12**, 465—489 (1951).
- AKAZAKI, K., M. KOZIMA, H. HASEGAWA, J. MURATA, K. UEGANE u. E. KODA: Über die Natur der Epitheloidzellen und der Typhuszellen. *Beitr. path. Anat.* **116**, 200—237 (1956).
- BARKA, T.: A simple azo-dye method for histochemical demonstration of acid phosphatase. *Nature (Lond.)* **187**, 248—249 (1960).
- , and P. J. ANDERSON: Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosaniline as coupler. *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 741—753 (1962).
- F. SCHAFFNER, and H. POPPER: Acid phosphatase in reticuloendothelial system. *Lab. Invest.* **10**, 590—607 (1961).
- BRAUNSTEIN, H., D. G. FREEMAN, and E. A. GALL: Histochemical study of the distribution of enzymatic activity in malignant lymphoma. *Amer. J. Path.* **33**, 603—604 (1957).
- — — A histochemical study of the enzymatic activity of lymph nodes. I. The normal and hyperplastic lymph node. *Cancer (Philad.)* **11**, 829—837 (1958).
- — — W. THOMAS, and E. A. GALL: A histochemical study of the enzymatic activity of lymph nodes. II. Further investigation of normal and hyperplastic lymph nodes. *Cancer (Philad.)* **15**, 130—138 (1962).
- — — — A histochemical study of the enzymatic activity of lymph nodes. III. Granulomatous and primary neoplastic conditions of lymphoid tissue. *Cancer (Philad.)* **15**, 139—152 (1962).
- BURSTONE, M. S.: Histochemical demonstration of acid phosphatase using naphthol-AS phosphates. *J. nat. Cancer Inst.* **21**, 523—539 (1958).
- DAVIS, B. J., and L. ORNSTEIN: High resolution enzyme localization with a new diazo reagent "Hexazonium Pararosaniline". *J. Histochem. Cytochem.* **7**, 297—298 (1959).
- DORFMAN, R. F.: Enzyme histochemistry of the cells in Hodgkin's disease and allied disorders. *Nature (Lond.)* **190**, 925—926 (1961).
- EHRICH, W.: Die Leukocyten und ihre Entstehung. *Ergebn. allg. Path. path. Anat.* **29**, 1—144 (1934).
- GEDIGK, P., u. E. BONTKE: Über die Enzymaktivität im Fremdkörpergranulationsgewebe. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 583—568 (1957).
- , u. R. FISCHER: Über die Anpassung der Enzymaktivität von Histiocyten an funktionelle Leistungen. *Klin. Wschr.* **38**, 806—809 (1960).
- GÖSSNER, W.: Histoenzymatische Untersuchungen zur Tuberkulose. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **39**, 152—155 (1955).
- Histochemischer Nachweis hydrolytischer Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode. Untersuchungen zur Methodik und vergleichenden Histotopie der Esterasen und Phosphatasen bei Wirbeltieren. *Histochemie* **1**, 48—96 (1958).
- GOLDBERG, A. F., and T. BARKA: Acid phosphatase activity in human blood cells. *Nature (Lond.)* **195**, 297 (1962).
- GOMORI, G.: *Microscopic Histochemistry*. Chicago: University Chicago Press 1952.
- GROGG, E., and A. G. E. PEARSE: The enzymatic and lipid histochemistry of experimental tuberculosis. *Brit. J. exp. Path.* **33**, 567—575 (1952).
- GROPP, A., u. K. HUPE: Nachweis von Enzymen an in vitro gezüchteten Makrophagen und epitheloiden Zellen. *Virchows Arch. path. Anat.* **331**, 641—652 (1958).
- KUFF, E. L., and A. J. DALTON: Biochemical studies of isolated Golgi membranes. In: *Subcellular particles*. New York: Ronald Press 1958.
- LEDER, L.-D., u. R. NICOLAS: Fermentcytochemische Untersuchungen zur Genese der Makrophagen an Hautfensterpräparaten. *Frankfurt. Z. Path.* **73**, 228—224 (1963).
- LENNERT, K.: (1) Histologische Studien zur Lymphogranulomatose. I. Die Cytologie der Lymphogranulomzellen. *Frankfurt. Z. Path.* **64**, 209—234 (1953).
- (2) Lymphknoten. Diagnostik in Schnitt und Ausstrich. In: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie*, Bd. 1/3 A. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961.

- LENNERT, K., u. H. LÖFFLER: (1) Zur Cytochemie der Lymphknotenzellen. Proc. 7th Congr. Europ. Soc. Haemat. London 1959, part II, 372—376 (1960).
- — (2) Fermenthistochemische Untersuchungen der Antikörperbildungsstätten. Verh. dtsch. Ges. Path. **46**, 115—118 (1962).
- — u. F. GRABNER: Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotens. IV. Mitt. Esterase in Schnitt und Ausstrich. Virchows Arch. path. Anat. **335**, 491—512 (1962).
- — u. L.-D. LEDER: (1) Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotens. I. Mitt. Alkalische Phosphatase in Schnitt und Ausstrich. Virchows Arch. path. Anat. **334**, 399—418 (1961).
- — — (2) Fermenthistochemische Untersuchungen am lymphoreticulären Gewebe. In: Zyto- und Histochemie in der Hämatologie. 9. Freiburger Symposium (Herausg. H. MERKER). Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- , u. H. RINNEBERG: Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotengewebes. II. Adenosintriphosphatase und 5-Nucleotidase im Lymphknotenschnitt. Klin. Wschr. **39**, 923—924 (1961).
- LÖFFLER, H.: Zur Enzymcytochemie der menschlichen Gewebsmastzellen. Colloquium über Cytochemie der Mastzellen. Verh. 8. Congr. Europ. Ges. Haemat. Wien 1961.
- , u. W. BERGHOFF: Eine Methode zum Nachweis von saurer Phosphatase in Ausstrichen. Klin. Wschr. **40**, 363—364 (1962).
- , u. I. C. F. SCHUBERT: Cytochemische Unterschiede zwischen Plasmazellen und Myelomzellen. Klin. Wschr. **41**, 484—488 (1963).
- MARUYAMA, K.: Electron microscopy studies on the cells of the lymphatic germinal center. IV. Internat. Symposium on Reticuloendothelial System, Otsu 1964.
- MORALES PLEGUEZUELO, M.: La citologia real de los ganglios linfáticos. Madrid: Editorial Paz Montalvo 1958.
- REINER, L., A. M. RUTENBURG, and A. M. SELIGMAN: (1) Acid phosphatase activity of human tumours. J. Histochem. Cytochem. **3**, 395—396 (1955).
- — — (2) Acid phosphatase activity in human neoplasm. Cancer (Philad.) **10**, 563—576 (1957).
- RINNEBERG, H., u. K. LENNERT: Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotens. III. Adenosintriphosphatase und 5-Nukleotidase in den Zellen des Lymphknotentupfpräparates. Klin. Wschr. **39**, 971 (1961).
- WEISS, L., and D. W. FAWCETT: Cytochemical observations on chicken monocytes, macrophages and giant cells in tissue culture. J. Histochem. Cytochem. **1**, 47—65 (1953).
- WURM, H.: Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie der Tuberkulose. In: Die Tuberkulose, Bd. 1. Leipzig 1943.

Professor Dr. K. LENNERT  
Pathologisches Institut der Universität  
23 Kiel, Hospitalstraße 42