

Morphologische und fermenthistochemische Untersuchungen zur Abgrenzung der Sinuswandzellen an Schnittpräparaten der menschlichen Milz*

H. J. STUTTE

Pathologisches Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. K. LENNERT)

Eingegangen am 13. Juli 1966

Integrierende Bestandteile der roten Pulpa der menschlichen Milz sind die Sinuswandzellen sowie die Reticulumzellen des perisinuösen Maschenwerks. Beide Zelltypen werden von ASCHOFF (1913, 1924) dem reticuloendothelialen System (RES) im engeren Sinne zugeordnet. ASCHOFF bemerkt jedoch einschränkend, daß bei einer derartigen Zusammenfassung verschiedener Zelltypen zu einem Zellsystem nicht behauptet werden solle, daß etwa die Kupfferschen Sternzellen der Leber und die Wandzellen der Milzsinus („Sinusendothelien“) völlig gleiche Elemente wären. ASCHOFF schreibt wörtlich: „Es handelt sich nur um eine gewisse grundsätzliche Ähnlichkeit in Bezug auf Phagocytose und Speicherung. Aber das sind Ähnlichkeiten und keine Gleichheiten. Wenn man so in das einzelne geht, wäre überhaupt keine Möglichkeit gegeben, von einem System oder auch nur einem Teilsystem zu sprechen. Das ist sicher“. Er überläßt es zukünftigen Untersuchungen, diese Differenzierung noch sorgfältiger durchzuführen. Die fortschreitende Entwicklung und Verbesserung histochemischer Untersuchungsmethoden ermöglicht es nun, an beispielsweise isomorphen und isogenen Zellgruppen bestimmter Organe und Gewebe eine Differenzierung, die funktioneller Natur sein kann, nachzuweisen. Dies gab uns Anlaß, der Aufforderung ASCHOFFs nachzukommen. So prüften wir mit fermentcytochemischen Methoden das Verhalten der zum RES gehörenden Zellen der roten Milzpulpa und konnten an menschlichem Untersuchungsgut eindeutige Unterschiede zwischen Sinuswandzellen und den Reticulumzellen der Billrothschen Stränge aufzeigen (STUTTE, 1965). Im folgenden berichten wir über weitere fermenthistochemische Untersuchungen der genannten Milzzellen an Schnittpräparaten, wobei vorwiegend auf die Morphologie der Sinuswandzellen und deren Abgrenzung gegenüber anderen zum sog. RES gehörenden Milzzellen eingegangen wird.

Material und Methoden

Es standen 150 menschliche Milzen zur Verfügung, von denen 33 dem bioptischen Einsendegut unseres Institutes entstammten und sofort nach der Exstirpation zur Untersuchung gelangten. Die übrigen Milzen wurden bei Frisch-Verstorbenen bis zu 6 Std nach dem Tode entnommen. Von unfixierten Gewebsstücken wurden mit dem Kryostat 10—15 μ dicke Gefrierschnitte hergestellt, die vor der Weiterverarbeitung auf entfettete Objektträger aufgezogen und luftgetrocknet wurden. Ein Teil des Gewebes wurde in 4%igem neutralem Formol fixiert und in der üblichen Weise histologisch weiterverarbeitet. Neben der Giemsa- und Hämatoxylin-Eosin-Färbung wurde eine Eisenhämatoxylin-Färbung nach HEIDENHAIN

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

angewandt: die entparaffinierten Schnitte wurden für 6 Std in 2,5%iger Eisenalaun-Lösung vorgebeizt, danach für 35 Std in 0,25%ige Hämatoxylin-Lösung eingestellt und anschließend in 2,5%iger Eisenhämatoxylin-Lösung differenziert.

Histochemische Methoden

Nachweis von unspezifischen Esterasen

1. *Methode.* Substrat: α -Naphthyl-acetat. Diazoniumsalz: hexazotiertes Pararosanilin nach DAVIS und ORNSTEIN (1959). Inkubation: pH 7,0, 20° C, 5—10 min.

2. *Methode.* Substrat: Naphthol-AS-acetat und Naphthol-AS-D-acetat. Diazoniumsalze: Echtgranatsalz GBC (Diazoniumsalz des o-Aminoazotoluol) und Echtblausalz BB extra conc. (Diazoniumsalz des 4-amino-2,5-diäthoxybenzanilid). Inkubation: pH 6,8, 20° C, 2 \times 20 min.

3. *Methode.* Substrate: Naphthol-AS-acetat und Naphthol-AS-D-acetat. Diazoniumsalz: hexazotiertes Triamino-tritoly-methan-chlorid (STUTTE, 1966). Inkubation: pH 6,8—7,0, 20° C, 30—60 min.

Darüberhinaus wurde in jedem Fall eine succedane Anwendung der Methode 1 (α -Naphthyl-acetat-Esterase) mit Methode 2 (Naphthol-AS-acetat-Esterase) am gleichen Präparat vorgenommen. Die Inkubationszeiten wurden dabei verlängert und auf eine Kerngegenfärbung verzichtet.

Nachweis der Naphthol-AS-D-Chloracetat-Esterase

Substrat: Naphthol-AS-D-Chloracetat. Diazoniumsalz: hexazotiertes Pararosanilin. Inkubation: pH 6,3, 20° C, 30—60 min. Diese Reaktion wurde nach der Modifikation von LEDER (1964) an Paraffinschnitten durchgeführt.

Nachweis der sauren Phosphatase

Substrat: Naphthol-AS-BI-phosphat. Diazoniumsalz: hexazotiertes Pararosanilin. Inkubation: pH 4,9—5,1, 20° C, 30—60 min.

Nachweis der alkalischen Phosphatase

1. *Methode.* Substrat: Di-Na- α -naphthyl-phosphat. Diazoniumsalze: Echtblausalz BB (extra conc.) und Echtrotsalz TR (4-Chloro-o-toluidin). Inkubation: pH 9,2—9,4, 20° C, 15—30 min.

2. *Methode.* Substrate: Naphthol-AS-BI-phosphat und Naphthol-AS-MX-Phosphat. Diazoniumsalz: hexazotiertes Triamino-tritoly-methan-chlorid (s.o.). Inkubation: pH 8,8 bis 9,4, 20° C, 10 min.

An sämtlichen Schnittpräparaten wurde neben den jeweiligen Fermentreaktionen die Darstellung des Gitterfasengerüsts mittels einer eigenen Modifikation der Perjodsäure-Silber-Hexamethylen-Tetramin-Methode (STUTTE und GLÜCK, 1965) vorgenommen.

Die Kerne wurden mit MAYERs Hämalaun oder mit Kernechtrot gefärbt. Präparate, bei denen als Diazoniumsalz hexazotiertes Pararosanilin oder hexazotiertes Triamino-tritoly-methan-chlorid verwendet wurde, deckten wir mit Gelatinol ein. Bei Verwendung der übrigen oben angeführten Diazoniumsalze gingen wir nach der von PETERS (1964) angegebenen Eindeckmethode vor.

Kontrollen. Zum Ausschluß von Artefakten wurden die Schnitte nach Hitzeinaktivierung (Wasser 100° C, 10 min) oder ohne Substrat inkubiert. In beiden Fällen erfolgte keine Reaktion.

Vor Erörterung der Befunde sei darauf hingewiesen, daß wir zum Nachweis der einzelnen Fermente meist mehrere Verfahren anwandten. Dabei wurden grundsätzlich übereinstimmende Resultate erzielt, jedoch waren Qualität und Quantität des Reaktionsproduktes bei den verschiedenen Methoden nicht in allen Fällen befriedigend. Wir legen deshalb der Beschreibung unserer Ergebnisse nur die oben angeführten Nachweisverfahren zugrunde, da sich diese im Vergleich zu anderen, hier nicht weiter abgehandelten Verfahren am besten bewährten.

Ergebnisse

Die *Sinuswandzellen* der menschlichen Milz zeigen einen hohen Gehalt an Naphthol-AS-acetat-Esterase (im folgenden AS-Esterase). Die Verwendung von hexazotiertem Triamino-tritoly-methan-chlorid (im folgenden TTMC) als Kuppungssalz bewirkt eine sehr exakte Lokalisation des nahezu homogenen Reaktionsproduktes bei fehlender oder allenfalls geringer Untergrundfärbung. Die leuchtend rote, sehr kräftige Anfärbung hebt die positiven Zellen gegenüber den negativen

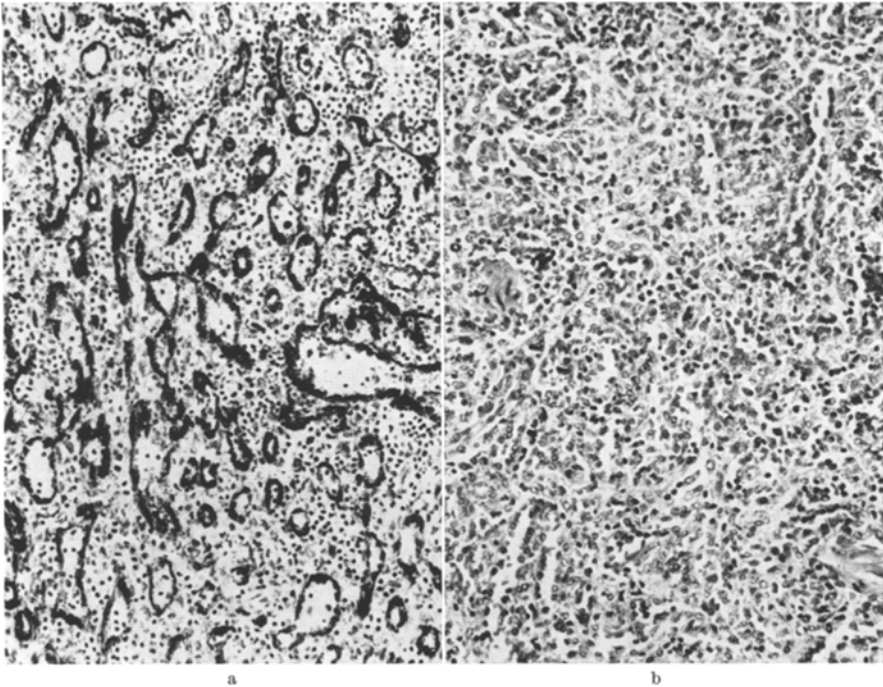


Abb. 1. a Stark Naphthol-AS-acetat-Esterase-positive Sinuswandzellen. Kryostatschnitt. b Gleiche Milz wie a. Paraffinschnitt. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Je 160mal

deutlich hervor und kontrastiert stark zu den mit Hämalun blau gefärbten Zellkernen. Lediglich bei Doppelfärbungen, wo ein kräftiger Farbkontrast beider Reaktionsprodukte gewünscht ist, verwendeten wir als Diazoniumsalz Echtblausalz BB (extra conc.), wobei ein ebenfalls sehr kräftiger, leuchtend blauer, allerdings recht grobkörniger Azofarbstoffniederschlag entstand. So sind am Schnittpräparat bei AS-Esterase-Reaktion schon bei schwacher Vergrößerung Verlauf und Ausdehnung des Sinussystems zu erkennen (Abb. 1a), während man sie auf vergleichbaren Paraffinschnitten bei Hämatoxylin-Eosin- oder Giemsa-Färbung allenfalls ahnen kann (Abb. 1b). Bei starker Vergrößerung tritt auf dem AS-Esterase-Präparat die Struktur der Sinuswand sehr deutlich hervor: Das Flächenbild zeigt eine in Achsenrichtung verlaufende parallele Lagerung der Wandzellen (Abb. 2a), die, wie auch der Querschnitt (Abb. 2b) veranschaulicht, mit der Anordnung von Faßdauben zu vergleichen ist. Eine Anfärbung anderer zum eigentlichen Milzgewebe gehörender Strukturen ist nicht zu erkennen. Die stärkste Vergrößerung zeigt nun die cytologische Struktur der Sinus-

wandzellen: Sie besitzen einen stark in das Sinuslumen vorspringenden runden bis längsovalen Kern sowie einen schmalen, lang ausgezogenen, axial gelagerten Plasmaleib. Der Durchmesser der Plasmaausläufer beträgt 2—3 μ . Der Kern ist zum Sinuslumen hin von einem sehr schmalen, mit den angewandten Untersuchungsmethoden häufig nicht nachweisbaren Plasmasaum umgeben. Bei Eisen-Hämatoxylin-Färbung nach HEIDENHAIN werden an der Zellbasis rhythmisch angeordnete plattenartige Strukturen dargestellt, während die übrigen

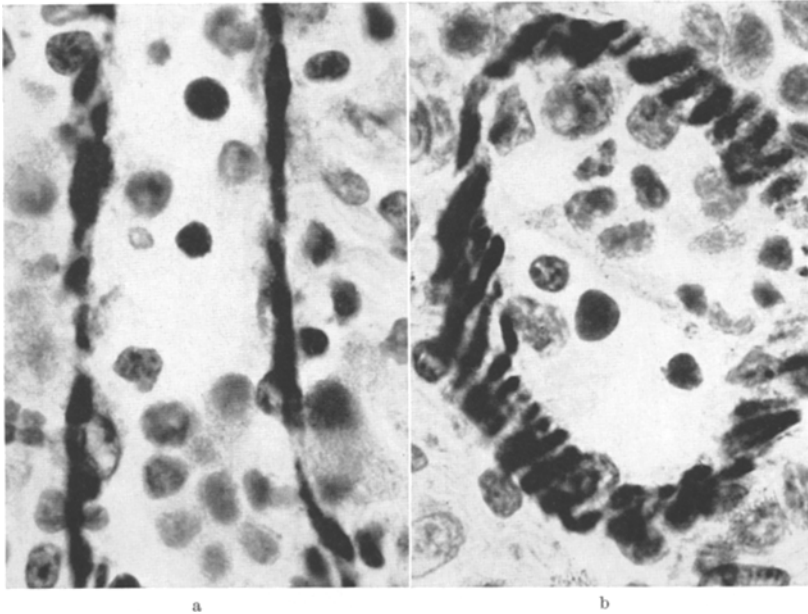


Abb. 2. a Sinuslängsschnitt. Einzelne Sinuswandzellen (im Original leuchtend rot) mit deutlich in das Sinuslumen ragenden Kernen. b Sinusquerschnitt. Faßdaubenartige Anordnung der Sinuswandzellen. Jeweils Kryostatschnitt; Naphthol-AS-acetat-Esterase. Je 1000mal

Plasmabezirke lediglich eine blaßgraue Färbung aufweisen (Abb. 3). Der Längsdurchmesser der Kerne der Sinuswandzellen beträgt 10—15 μ , ihr Querdurchmesser 6—10 μ . Die Kerne besitzen eine netzartige, recht dichte Chromatinstruktur sowie 1—2 oft nur undeutlich erkennbare Nucleolen. Die Kerne weisen häufig 1—3 schmale, parallel verlaufende, dunkle Streifen auf, die bei Aufsicht in Kernmitte, bei Seitenansicht an der Kernbasis liegen. Diese Streifen entsprechen möglicherweise den auf Kernquerschnitten gelegentlich erkennbaren, longitudinal angeordneten, basalen Kerneinbuchtungen.

Neben der AS-Esterase ließ sich in den Sinuswandzellen ein geringer Gehalt an α -Naphthyl-acetat-Esterase (im folgenden α -N-Esterase) (Abb. 4a) sowie eine sehr schwache, angedeutete Aktivität von saurer Phosphatase nachweisen. Alkalische Phosphatase enthielten die Sinuswandzellen unter normalen Bedingungen nie. Beim Nachweis der Naphthol-AS-D-Chloracetat-Esterase (im folgenden NASDCI-Esterase) waren sie stets negativ. Fermenthistochemisch verhalten sie sich demnach vollkommen gegensinnig zu den *Reticulumzellen* der Billrothschen Stränge, die in der Regel einen hohen Gehalt an α -N-Esterase (Abb. 4b) und saurer Phosphatase zeigen, während nur eine geringe AS-Esterase-Aktivität nachzuweisen ist.

Die Reaktion auf alkalische Phosphatase und NASDCl-Esterase war stets negativ. Darüberhinaus bieten die Reticulumzellen der roten Pulpa auch cytologisch ein anderes Bild als die Sinuswandzellen. Sie sind 30—50 μ groß. Das Plasma ist schwach basophil oder oxyphil und besitzt gelegentlich plumpe oder schlanke Ausläufer. Als Ausdruck einer Hauptfunktion dieser Zellen sind in ihrem Plasma häufig phagocytierte Zelltrümmer und verschiedenartige Substanzen nachweisbar. Die Kerne der Reticulumzellen sind meist plumpoval, gelegentlich leicht eingekerbt. Ihr Durchmesser beträgt 10—15 μ . Sie besitzen 1—3, in der Regel gut abgrenzbare helle oder schwach blaue Nucleolen. Das Chromatingerüst ist fein.

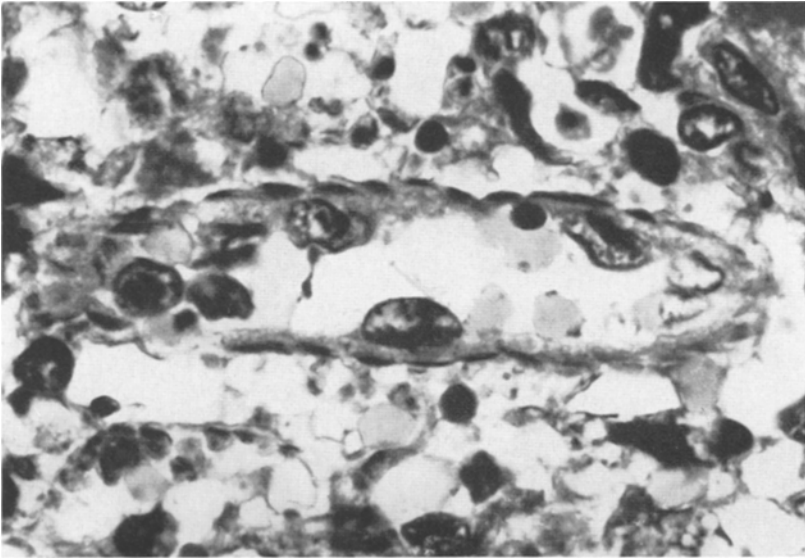


Abb. 3. Sinuswandzellen mit rhythmisch angeordneter basaler Cytoplasmaverdichtung. Paraffinschnitt. Eisenhämatoxylin-Färbung nach HEIDENHAIN. 1400mal

Die in den Milzsinus gelegentlich anzutreffenden *freien Makrophagen* haben meist ein abgerundetes Plasma, sind im übrigen cytologisch den Reticulumzellen sehr ähnlich. Auch fermentcytochemisch (Abb. 4c) zeigen sie eine volle Übereinstimmung mit ihnen und lassen sich somit ebenfalls deutlich von den Sinuswandzellen unterscheiden.

Die *Gefäßendothelien* verhalten sich fermenthistochemisch recht charakteristisch: Die Endothelien von Arteriolen und Capillaren enthalten reichlich alkalische Phosphatase. Die Venolenendothelien zeigen dagegen eine geringgradige bis mäßige unspezifische Esteraseaktivität, und zwar sowohl α -N-Esterase als auch AS-Esterase. Bei Giemsa-Färbung erscheint das Plasma der Endothelien meist basophiler als das der Sinuswandzellen. Die Capillarendothelien zeigen blasse, ovale Kerne, ähnlich den Kernen von Reticulumzellen; die Kerne der Venolenendothelien gleichen oft denjenigen von (saftigen) Epitheloidzellen.

Die in der roten Milzpulpa regelmäßig anzutreffenden *Blutmonocyten*, deren Herkunft aus dem myeloischen System LEDER (1966) kürzlich nachweisen konnte, sind schon bei Giemsa-Färbung an Hand des charakteristisch gelappten, vielgestaltigen, häufig wurst- oder bohnenförmigen Kernes mit seinem lockeren

Chromatin zu identifizieren. Sie lassen sich auch fermentcytochemisch gut abgrenzen: Im Gegensatz zu den Sinuswandzellen zeigen sie stets eine deutliche α -N-Esterase-Aktivität (Abb. 4d); saure Phosphatase ist, in unterschiedlicher Stärke, stets nachweisbar. Ein kleiner Teil der Zellen zeigt auch eine positive NASDCl-Esterase-Reaktion. Gemeinsam ist Monocyten und Sinuswandzellen der Milz eine starke AS-Esterase-Aktivität.

In wechselndem Ausmaße in der roten Pulpa anzutreffende Zellen, wie *Lymphocyten*, *Plasmazellvorstufen* und *Plasmazellen*, *Erythrocyten* und *Granulocyten* mit ihren Vorstufen sowie *Megakaryocyten* sind schon bei Giemsa-Färbung

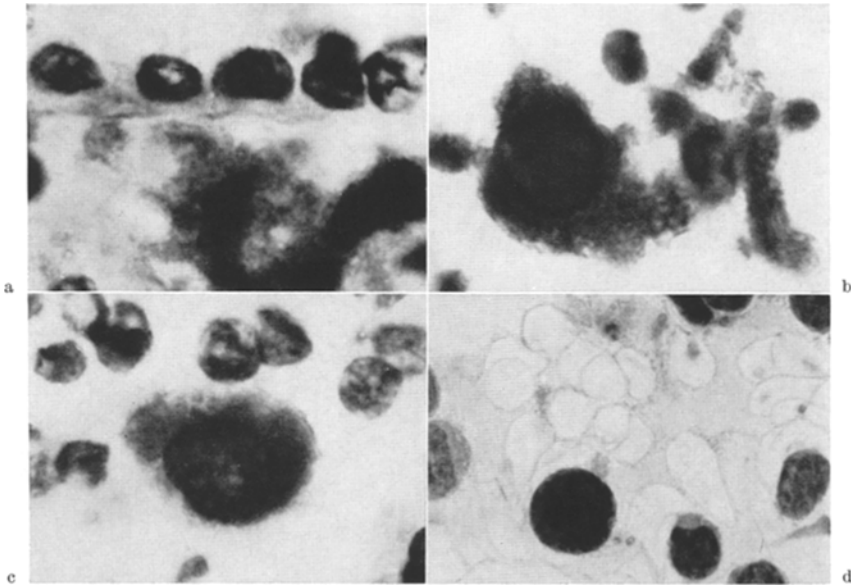


Abb. 4a—d. α -Naphthyl-acetat-Esterase. Kryostat-schnitte. Je 1400mal. a Schwach positive Sinuswandzellen, darunter Plasmaausläufer einer stark positiven Reticulumzelle. b Stark positive Reticulumzelle. c Stark positiver „großer freier Makrophag“. d Stark positiver Blutmonocyt in einem größeren Gefäß

eindeutig zu identifizieren und nicht mit den Sinuswandzellen zu verwechseln, so daß auf eine eingehende Beschreibung verzichtet werden kann. Schließlich soll noch auf die *Serosazellen* der Milzkapsel hingewiesen werden. Es handelt sich dabei um sehr charakteristisch aussehende Elemente von 20—40 μ Durchmesser. Das Plasma ist, im Gegensatz zur Sinuswandzelle, kräftig basophil. Der meist etwas exzentrisch liegende Kern ist größer als bei Sinuswandzellen, zeigt eine grobkörnige, dichte Chromatinstruktur und enthält 1—2 deutlich erkennbare, helle Nucleolen. Fermentcytochemisch zeichnen sich die Serosazellen durch einen wechselnd starken Gehalt an saurer Phosphatase, α -N-Esterase und AS-Esterase aus.

Diskussion

Seit der ersten genaueren Beschreibung durch WEIDENREICH (1901) bestehen unterschiedliche Anschauungen über die Natur der Sinuswandzellen. So vertrat MOLLIER (1911) die Meinung, daß sowohl die Sinus als auch die Maschenräume der roten Pulpa von einem „einheitlichen syncytialen cytoplasmatischen Reti-

culum“ ausgekleidet seien (ausführliche Literaturübersicht bei HUECK, 1928). Entgegen der von ASCHOFF ausgesprochenen Warnung, aus funktionellen Ähnlichkeiten von Zellen des RES nicht auf deren morphologische oder genetische Identität zu schließen, sah KRYONO (1914) in den zu seinem „histiocytären System“ gezählten Zellarten, nämlich Reticulumzellen, „Reticuloendothelien“ und „Histiocyten“, genetisch gleiche Zellen, deren gestaltliche Unterschiede lediglich ihrer unterschiedlichen Lokalisation zuzuschreiben seien. Dieser Auffassung haben sich KOBOTH (1939) und zahlreiche andere Untersucher angeschlossen. In einer recht ausführlichen Untersuchung zur Milzcytologie von TEMPKA und KUBICZEK (1938) werden die Sinuswandzellen nicht erwähnt. Es findet sich lediglich ein kurzer Hinweis auf zum RES gehörige „Endothelien“, deren Beschreibung jedoch nicht auf die Sinuswandzellen zutrifft. WEISS (1957) untersuchte Sinuswandzellen und Reticulumzellen der Billrothschen Stränge elektronenmikroskopisch, fand eine weitgehende Identität dieser Zellen und sprach die Vermutung aus, daß die Billrothschen Stränge aus kollabierten Sinus beständen, eine Ansicht, die er später (1962) revozierte. Fermenthistochemische Untersuchungen schienen zunächst ebenfalls die funktionelle, morphologische und möglicherweise auch genetische Identität der reticuloendothelialen Milzzellen zu bestätigen: BRAUNSTEIN et al. (1958) wiesen in den Sinuswandzellen der menschlichen Milz einen hohen Gehalt an unspezifischer Esterase und saurer Phosphatase nach und setzten sie den Reticulumzellen und Sinusretothelien von Lymphknoten und Knochenmark sowie den Kupfferschen Sternzellen der Leber und den Blutmonocyten gleich. Gleichartige Befunde wurden von GÖSSNER (1958) und später von LÖFFLER (1960) erhoben.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß die Sinuswandzellen der menschlichen Milz eine spezifische Morphologie besitzen. Sie sind, besonders bei Anwendung fermentcytochemischer Methoden, eindeutig sowohl von den übrigen Zellen der roten und weißen Milzpulpa als auch von den mit dem Blutstrom dorthin gelangten Zellen gut zu differenzieren (Tabelle). Unsere Befunde stimmen

Tabelle

	Sinuswand- zellen	Reticulum- zellen	Monocyten	Capillar- Endothelien	Venolen- Endothelien	Serosa zellen
α -N-Esterase	(+)	+++	+	Ø	+	+++
AS-Esterase	+++	(+)	+++	Ø	+	+++
NASDCl-Esterase	Ø	Ø	(+)	Ø	Ø	Ø
Saure Phosphatase	(+)	+++	+	Ø	Ø	+++
Alkalische Phosphatase	Ø	Ø	Ø	+++	Ø	Ø

völlig überein mit den Angaben von WEIDENREICH, der die erste genauere Beschreibung der Sinuswandzellen (wir verwenden diesen Ausdruck, um präjudizierende Begriffe, wie „Reticuloendothelien“, „Sinusretothelien“ oder „Sinusendothelien“, zu vermeiden) gab und sie wegen ihrer charakteristischen Form und Anordnung als „Stabzellen“ bezeichnete. WEIDENREICH hielt die streifige Kernstruktur der Sinuswandzellen für hochspezifisch, räumte jedoch ein, daß auch Kerne ohne diese Strukturen dem „Endothel“ eines Milzsinus oder eine „Verbindungsrohre“ angehören könnten. Bei Anwendung der Eisenhämatoxylin-

Färbung nach HEIDENHAIN konnten wir auch die von MANGUBI-KUDRJAVTZEWA (1909) beschriebene „Basalplatte“, eine in rhythmischer Folge an der Zellbasis angeordnete Verdichtung des Cytoplasmas beobachten. STOECKENIUS (1958), der elektronenmikroskopische Untersuchungen am Milzreticulum durchführte, konnte die Existenz dieser Strukturen bestätigen. Er faßt sie als intrazelluläre Stützsubstanz auf, wie sie in ähnlicher Weise bei Epithelzellen zu finden sein soll.

Der Auffassung WEIDENREICHs schloß sich LUBARSCH (1927) an, der in Milzaustrichen stets zahlreiche Sinuswandzellen fand. NÄGELI (1928) faßte die Sinuswandzellen als besonders differenzierte, nur in der Milz vorkommende, cytologisch eindeutig von Reticulumzellen abgrenzbare Zellen auf. MOESCHLIN (1947) beschreibt sie unter der Bezeichnung „Pulpaellen“ und sieht darin die einzige morphologisch wirklich spezifische Zelle der Milz. AKAZAKI (1952), der die Sinuswandzellen von einer primitiven Endothelzelle herleitet, trennt sie von den Reticulumzellen der Pulpa ab.

Erste Hinweise auf ein unterschiedliches Verhalten von Sinuswandzellen und Reticulumzellen menschlicher Milzen bei Anwendung fermenthistochemischer Untersuchungsmethoden gab DORFMAN (1961), der, in Übereinstimmung mit unseren Befunden, in den Sinuswandzellen keine α -N-Esterase-Aktivität nachweisen konnte, während die Reticulumzellen der Billrothschen Stränge stets eine starke Reaktion zeigten. Zu gleichartigen Ergebnissen gelangte auch BARBOLINI (1964).

Insgesamt kommen wir an Hand der vorgelegten Befunde, gestützt auf weitere in der Literatur niedergelegte Beobachtungen, zu der Auffassung, daß die Sinuswandzellen der menschlichen Milz morphologisch und fermentcytochemisch exakt zu definierende Elemente sind. Durch ihre Enzymausstattung unterscheiden sie sich deutlich von den Sinuswandzellen verschiedener Säugermilzen (LÖFFLER, 1960). Eindeutig sind sie aufgrund der genannten Kriterien auch von den zum RES gezählten Sinusendothelien des Lymphknotens, den Kupfferschen Sternzellen der Leber, den Reticulumzellen in Lymphknoten und Knochenmark sowie, was uns besonders wichtig erscheint, von den Reticulumzellen der Milz selbst zu trennen. Wir fassen daher die Sinuswandzellen der menschlichen Milz als eine besonders differenzierte, möglicherweise für den Menschen — eingehende Untersuchungen an Primaten stehen noch aus! — typische Zelle auf. Unsere Auffassung stimmt mit der von NÄGELI im gleichen Zusammenhang geäußerten Anschauung überein, daß das Auffinden einer morphologisch spezifischen Zelle den Gedanken an eine spezifische Tätigkeit nahelegt; denn „die Natur leistet sich den Luxus besonderer Bildungen ohne besondere Bedeutung nicht“ (NÄGELI). Die möglichen Funktionen der Sinuswandzellen zu erörtern, geht über den Rahmen dieser Arbeit hinaus. Wir sind jedoch sicher, daß die Hauptfunktion der Sinuswandzellen nicht in der Phagocytose liegen kann. Für das Kaninchen wurde dieses bereits von AKAZAKI (1952) anhand von Carminspeicherungsversuchen nachgewiesen. SIMON und PICTET (1964) konnten elektronenmikroskopisch an Rattenmilzen eine ungleich schwächere Phagocytoseaktivität der Sinuswandzellen gegenüber den Reticulumzellen der Pulpa feststellen. Da bei der Milz jedoch sehr stark ausgeprägte Speziesunterschiede bestehen, sind Vergleiche oder Analogieschlüsse nur mit äußerster Zurückhaltung zu ziehen.

Zusammenfassung

An Schnittpräparaten menschlicher Milzen wurden cytologische und ferment-cytochemische Untersuchungen (α -Naphthyl-acetat-Esterase, Naphthol-AS-acetat-Esterase, Naphthol-AS-D-chloracetat-Esterase sowie saure und alkalische Phosphatase) durchgeführt. Dabei fand sich, daß die Sinuswandzellen eine sehr typische Morphologie besitzen und, im Gegensatz zu den Reticulumzellen anderer Provenienz, reichlich Naphthol-AS-acetat-Esterase, hingegen nur wenig α -Naphthyl-acetat-Esterase und saure Phosphatase enthalten. Die Sinuswandzellen sind somit eine gut zu definierende und eindeutig von den übrigen sog. reticulo-endothelialen Zellen in Milz, Lymphknoten, Knochenmark und Leber zu trennende Zellgruppe und als solche eine besonders differenzierte, möglicherweise für die Milz des Menschen typische Zellform.

Morphological and Enzyme Histochemical Studies for Differentiating in Sections the Sinus Lining Cells of Human Spleen

Summary

Frozen and paraffin embedded sections of human splenic tissue were analyzed cytologically and enzyme histochemically (α -naphthyl-acetate esterase, naphthol-AS-acetate esterase, naphthol-AS-D-chloroacetate esterase, acid and alkaline phosphatase) with special attention given to the littoral cells. These cells lining the sinuses show strong naphthol-AS-acetate esterase activity and little or no α -naphthyl-acetate esterase activity. Thus, they can be differentiated from other so-called reticulo-endothelial cells found in the spleen, lymph nodes and bone marrow. The morphology and enzyme-histochemistry of littoral cells probably differentiate them as a distinct cell type of the human spleen.

Literatur

- AKAZAKI, K.: Reticulo-endothelial system. *Acta path. jap.* **2**, 113—142 (1952).
 ASCHOFF, L.: Ein Beitrag zur Lehre von den Makrophagen auf Grund von Untersuchungen des Herrn Dr. KIYONO. *Verh. dtsch. path. Ges.* **16**, 107—110 (1913).
 — Das retikulo-endotheliale System. *Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.* **26**, 1—118 (1924).
 BARBOLINI, G.: Ricerche istotopochimiche sugli istiociti in posizione endoteliale della milza nell'uomo. *Arch. de Vecchi* **44**, 527—538 (1964).
 BRAUNSTEIN, H., D. G. FREIMAN, and E. A. GALL: A histochemical study of the enzymatic activity of lymph nodes. *Cancer (Philad.)* **11**, 829—837 (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).
 DOREMAN, R. F.: Nature of the sinus lining cells of the spleen. *Nature (Lond.)* **190**, 1021 (1961).
 GÖSSNER, W.: Histochemischer Nachweis hydrolytischer Enzyme mit Hilfe der Azofarbstoffmethode. *Histochemie* **1**, 48—96 (1958).
 HUECK, W.: Die normale menschliche Milz als Blutbehälter. *Verh. Dtsch. Path. Ges.* **23**, 6—38 (1928).
 KIYONO, K.: Die vitale Farbstoffspeicherung. Jena: Gustav Fischer 1914.
 KOBOTH, I.: Über das Gitterfasengerüst der roten Milzpulpa mit einem Beitrag zu ihrer Gefäßstruktur und Blutdurchströmung. *Beitr. path. Anat.* **103**, 11—29 (1939).
 LEDER, L.-D.: Über die selektive fermentcytochemische Darstellung von neutrophilen myeloischen Zellen und Gewebasmastzellen im Paraffinschnitt. *Klin. Wschr.* **42**, 553 (1964).
 — Fermentcytochemische Untersuchungen zur Herkunft des Blutmonoocyten. *Klin. Wschr.* **44**, 25—30 (1966).

- LÖFFLER, H.: Vergleichende histochemische Untersuchungen an Säugermilzen. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **44**, 351—355 (1960).
- LUBARSCH, O.: Pathologische Anatomie der Milz. In: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*, Bd. 1/II. Berlin: Springer 1927.
- MANGUBI-KUDRJAVTZEWA, A.: Über den Bau der venösen Sinus der Milz des Menschen und Rhesusaffen. *Anat. H.* **39**, 697—736 (1909).
- MOESCHLIN, S.: Die Milzpunktion. Basel: Benno Schwabe & Co. 1947.
- MOLLIER, S.: Über den Bau der capillaren Milzvenen (Milzsinus). *Arch. mikr. Anat.* **76**, 608—657 (1910/11).
- NAEGELI, O.: Die Klinik der chronischen Megalosplenien. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **40**, 511—526 (1928).
- PETERS, H.: Eine Methode zur Verhinderung von Farbstoffzerfall und Gasblasenbildung in fermenthistochemischen Präparaten. *Histochemie* **4**, 345—347 (1964).
- SIMON, G., et R. PICTET: Etude au microscope électronique des sinus spléniques et des cordons de Billroth chez le rat. *Acta anat. (Basel)* **57**, 163—171 (1964).
- STOECKENIUS, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Retikulum der Milz. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **42**, 351—352 (1958).
- STUTTE, H. J.: Zur fermenthistochemischen Differenzierung retikulo-endothelialer Milzzellen. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **49**, 280—283 (1965).
- Hexazotiertes Triamino-tritoly-methan-chlorid (Neufuchsin) als Kupplungssalz in der Fermenthistochemie. In Vorbereitung.
- , u. W. GLÜCK: Über Gitterfaserdarstellung an fermenthistochemischen Präparaten. *Histochemie* **5**, 130—134 (1965).
- TEMPKA, T., u. M. KUBICZEK: Das normale und pathologische Splenogramm im Lichte eigener Untersuchungen. I. Mitteilung: Das normale Splenogramm. *Folia haemat. (Lpz.)* **60**, 18—37 (1938).
- WEIDENREICH, F.: Das Gefäßsystem der menschlichen Milz. *Arch. mikr. Anat.* **58**, 247—376 (1901).
- WEISS, L.: A study of the structure of splenic sinuses in man and in the albino rat with the light microscope and the electron microscope. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 599—610 (1957).
- The structure of fine splenic arterial vessels in relation to hemoconcentration and red cell destruction. *Amer. J. Anat.* **111**, 131—174 (1962).

Dr. H. J. STUTTE
Pathologisches Institut der Universität
23 Kiel, Hospitalstr. 42