

## Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische Untersuchungen über den morphologischen Unterschied zwischen Reticulumzellen und Sinusendothelien des Mäuselymphknotens

TSUTOMU WATANUKI, AKIRA B. MIURA und KINJIRO KOIZUMI

Pathologisches Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. E. UEHLINGER) und  
Pathologisches Institut der Universität Tohoku (Direktoren: Ehrenprof. Dr. K. AKAZAKI  
und Prof. Dr. N. SASANO)

Eingegangen am 22. August 1968

### *An Electronmicroscopic and Enzymohistochemical Study of the Morphological Difference between the Reticulum Cell and the Endothelium of the lymphatic Sinus of the Lymph Node of Mice*

*Summary.* In order to clarify the morphological difference between the reticulum cell and the endothelium of the lymphatic sinus of the lymph node, the axillary, femoral and mesenteric lymph nodes of white mice were electronmicroscopically and enzymohistochemically studied. The examination was carried out not only under untreated, physiological conditions but also after the administration of carbon black and of R.E.S.-stimulants such as Zymosan and typhoid-paratyphoid-vaccine. The results obtained were as follows:

1. Electronmicroscopically, there were distinct differences between the endothelium of the lymphatic sinus and the reticulum cell in the localization, the submicroscopic cell character, particularly intracellular organelles, the specific granules, and in the mechanism of the formation of the phagocytized granules and their digestion.

2. Enzymohistochemically, the reticulum cell was rich in almost all of the enzymes examined, particularly acid phosphatase, nonspecific esterase and  $\beta$ -glucuronidase. In contrast, the endothelium of the lymphatic sinus showed the absence of or only slight enzymatic activity, except for marked activity of alkaline phosphatase which suggested a functional similarity of this cell to the endothelium of the lymphatic vessels.

With these two findings, it is not difficult to distinguish the endothelium of the lymphatic sinus of the lymph node from the reticulum cell.

3. In spite of the findings described above, the endothelium of the lymphatic sinus occasionally showed an abundance of intracellular organelles and a fairly marked activity of phagocytosis. The endothelium of the lymphatic sinus of the mesenteric lymph node showed, even under physiological conditions, remarkable hydrolase activity, particularly acid phosphatase. Under stimulated conditions, the endothelium of the lymphatic sinus of the lymph nodes of the other portions developed positive acid phosphatase activity. These findings suggest a morphological and functional similarity of the endothelium of the lymphatic sinus to the reticulo-endothelium such as the Kupffer's stellate cell of the liver.

On the basis of these findings it is reasonable to include the endothelium of the lymphatic sinus of the mesenteric lymph node in the R.E.S.

*Zusammenfassung.* Um die Unterschiede zwischen Reticulumzellen und Sinusendothelien des Lymphknotens zu präzisieren, wurden axilläre, femorale und mesenteriale Lymphknoten weißer Mäuse elektronenmikroskopisch und enzymhistochemisch untersucht. Die Untersuchung erfolgte a) unter physiologischen Bedingungen, b) nach Tuschegebe, und c) nach Reizung durch Verabreichung von R.E.S.-Aktivatoren, wie Zymosan und Typhus-Paratyphus-Vaccine. Es ergeben sich folgende Befunde:

1. Elektronenmikroskopisch zeigen die Sinusendothelien einige charakteristische Verschiedenheiten im Vergleich zu den Reticulumzellen, z. B. in ihrer Lokalisation, in der submikroskopischen Struktur, besonders der intracellulären Organellen, vornehmlich der spezifischen Granula, und im Entstehungsmechanismus der Phagocytosegranula, sowie in der Verdauung der phagocytierten Substanzen.

2. Enzymhistochemisch zeigen die Sinusendothelien eine negative oder nur schwache Aktivität sämtlicher untersuchter Enzyme, ausschließlich der Aktivität der alkalischen Phosphatase, die sehr stark ist. Dagegen zeigen die Reticulumzellen eine bemerkenswerte Aktivität fast aller untersuchten Enzyme, besonders der sauren Phosphatase, welche eine enge Beziehung zur Phagocytosefähigkeit der Zelle hat. Auch unspezifische Esterase und  $\beta$ -Glucuronidase sind reichlich vorhanden.

Auf Grund dieser Befunde sind die Sinusendothelien und Reticulumzellen als biologisch differente Zellformen zu bezeichnen.

3. Trotz der elektronenmikroskopischen und enzymhistochemischen Untersuchungen enthalten die Sinusendothelien nicht selten ziemlich zahlreiche Organellen im Cytoplasma und entfalten eine ziemlich starke Phagocytosefähigkeit. Ferner weisen besonders die Sinusendothelien des mesenterialen Lymphknotens, selbst im physiologischen Zustand, eine bemerkenswerte Aktivität der hydrolytischen Enzyme auf, besonders der sauren Phosphatase. Im Reizzustand zeigen auch die Sinusendothelien des axillären und femoralen Lymphknotens eine positive Aktivität dieses Enzyms. Diese Befunde führen zu der Annahme, daß die Sinusendothelien dadurch eine wesentliche morphologische und funktionelle Annäherung an die Reticuloendothelien wie die Kupfferschen Sternzellen erreichen. Aus diesem Grund erachten wir es ferner für richtig, die Sinusendothelien des mesenterialen Lymphknotens in das reticuloendotheliale System einzuschließen.

### Material und Methoden

Zur Abklärung wurden an erwachsenen, 4—6 Wochen alten, männlichen weißen (dd) Mäusen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 20 g folgende Versuche unternommen:

#### *A. Elektronenmikroskopische Untersuchungen*

Sie wurden an 2 Gruppen durchgeführt:

##### *1. Kontrollen (unbehandelte Tiere)*

##### *2. Mit Tusche behandelte Tiere*

0,04 ml der 1%igen Pelikan-Ausziehtusche in Aqua dest. wurde in einmaliger Gabe in die Fußsohle injiziert. Der gleichseitige femorale Lymphknoten wurde  $\frac{1}{2}$ , 1, 3 und 24 Std nach der Injektion oder 2, 3, 5, 7, 14, 21 und 30 Tage danach ohne Narkose entnommen, in 2%ige  $\text{OsO}_4$  (mit gleichen Volumen Beronal-Puffer, pH 7,4—7,6) und 4,5%igem Rohrzucker bei 4° C während 2—4 Std fixiert, in Aceton dehydriert und in Epon eingebettet. Die Dünnschnitte wurden entweder mit Uranylacetat-Bleinitrat kontrastiert oder ohne Kontrastierung und mit dem Elektronenmikroskop Hitachi HU-10 untersucht.

#### *B. Enzymhistochemische Untersuchungen*

Sie wurden in 3 Gruppen durchgeführt:

##### *1. Kontrollen*

##### *2. Mit Tusche behandelte Tiere*

0,2 ml der 1%igen Pelikan-Ausziehtusche in physiologischer Kochsalzlösung wurde einmal täglich injiziert, entweder 1, 2, 5 oder 10 Tage nacheinander. Die Injektionen erfolgten in die Fußsohle oder in die Mitte des Rückens. Die femoralen Lymphknoten wurden 24 Std nach der letzten Injektion entnommen.

##### *3. Mit R.E.S.-Aktivatoren behandelte Tiere*

1 mg/0,2 ml Zymosanlösung (NB Co.) wurde in einmaliger intravenöser Injektion oder 0,2 ml der Typhus-Paratyphus-Vaccine (Kitasato Inst.) einmal täglich am 1. und 3. Tag intraperitoneal injiziert. Entnahme der Lymphknoten am 1., 3., 5. und 8. Tag nach der letzten

Injektion. Anfertigung von Kryostatschnitten (Lipshaw Co.), Elektronenmikroskopie-Glasmesserschnitten<sup>1</sup> und Ausstrichpräparaten aus den axillären, lumbalen und mesenterialen Lymphknoten.

Folgende Enzyme wurden histochemisch untersucht: 5 Hydrolasen, d.h. saure Phosphatase (GOMORI, 1953), alkalische Phosphatase (BURSTONE, 1958b), unspezifische Esterase (BURSTONE, 1958a), Adenosintriphosphatase (WACHSTEIN, 1963),  $\beta$ -Glucuronidase (FISCHMAN, 1963) und 6 Dehydrogenasen, d.h. Succinodehydrogenase (NACHLAS, 1958), Cytochromoxydase (BURSTONE, 1960), Lactatdehydrogenase (NACHLAS, 1958), Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (COHEN, 1959), NAD-Diaphorase (NACHLAS, 1958) sowie NADP-Diaphorase (COHEN, 1959). Von jedem Fall wurden ferner Paraffinschnitte angefertigt, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt, die Perjodsäure-Schiff-Reaktion und Silberimprägnation vorgenommen und Ausstriche in Giemsa-Färbung sowie Perjodsäure-Schiff-Reaktion untersucht.

## Ergebnisse

### *A. Elektronenmikroskopische Untersuchungen*

#### *1. Kontrollen*

Die zum R.E.S. gehörenden Zellen des Lymphknotens sind in Reticulumzellen und Sinusendothelien eingeteilt worden. Die Reticulumzellen liegen im Parenchym und im cellulären Netzwerk innerhalb der Lymphsinus. Die Sinusendothelien liegen als Uferzellen auf der inneren Oberfläche der kapselseitigen und der parenchymseitigen Sinuswand.

*a) Reticulumzellen.* Es besteht ein nicht geringer Unterschied zwischen den Reticulumzellen in Größe und Gestalt und in Zahl und Struktur der intracellulären Organellen. In der Regel ist aber doch eine gewisse Ähnlichkeit aller Zellen zu beobachten.

Die Größe der Reticulumzellen ist unterschiedlich. Es gibt kleine Reticulumzellen wie kleine Lymphocyten und große Reticulumzellen mit einem vierfachen Durchmesser eines kleinen Lymphocyten. Die Gestalt ist unterschiedlich. Es finden sich abgerundete freie Formen und polygonale im Verband. Obschon die Oberfläche der Reticulumzellen relativ glatt ist, finden sich protoplasmatische Fortsätze. Die Fortsätze benachbarter Reticulumzellen greifen oft ineinander.

Der Kern ist meist rundlich oder oval. Nicht selten gibt es Kerne mit deutlicher und mehrfacher Einkerbung. Der Chromatingehalt des Kernes wechselt beträchtlich, ist aber immer geringer als bei den Lymphocyten. Nicht selten sind 1 oder 2 Nucleolen zu beobachten. Innerhalb des Kernraums findet sich ein Körperchen mit eigenartiger Gestalt. Dieses stimmt weder mit dem Chromatin noch mit den Nucleolen überein. Die Verfasser nennen es vorläufig das spezifische intranucleäre Körperchen. Es hat einen Durchmesser von höchstens  $0,3\ \mu$  und besteht aus feinen, gleichmäßig verteilten Mikrogranula (Abb. 1).

Die intracellulären Organellen der Reticulumzellen zeigen eine gute Entwicklung und sind im allgemeinen reichlicher als in den Sinusendothelien.

<sup>1</sup> Die Präparation der Glasmesserschnitte ist folgende: 1. Fixierung in 5%iger Glutaraldehydlösung bei  $4^{\circ}\text{C}$ , 2 Std lang. 2. Mehrmals spülen in Cacodylat-Puffer. 3.  $100\ \mu$  dicke Gefrierschnitte. 4. Mehrmals spülen in Cacodylat-Puffer. 5. Eintauchen in Farbstofflösung. 6. Spülen in Cacodylat-Puffer. 7. Eintauchen in Acetessigsäure-Wassergemisch und anschließend in Ammoniumsulfidwasserlösung, wie gewöhnlich. 8. Genügend spülen in Cacodylat-Puffer. 9. Schnelles Dehydrieren in Aceton. 10. Einbetten in Epon. 11.  $10\ \mu$  Halbdünnschnitte mit dem Glasmesser.

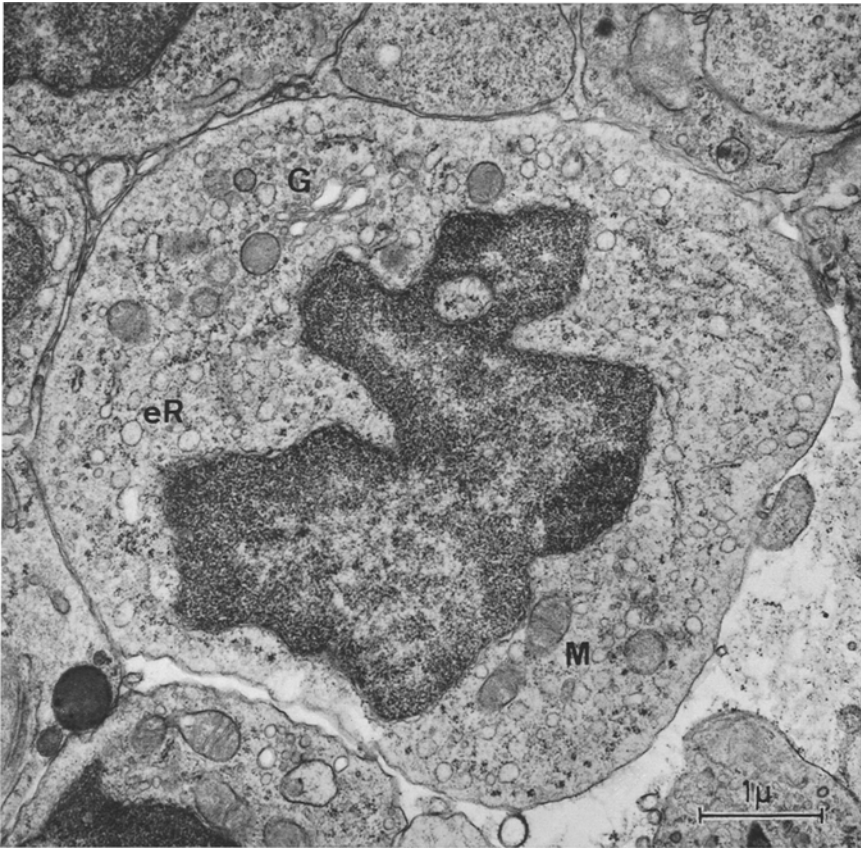


Abb. 1. Femorallymphknoten einer unbehandelten Maus. Abgerundete, freie Reticulumzelle aus dem Sinusraum. Der Kern ist unregelmäßig, mehrfach gekerbt. Die Kernsubstanz zeigt eine mittlere Elektronendichte. Im Cytoplasma erkennt man gut entwickelte intracelluläre Organellen, wie Golgi-Apparat (*G*), Mitochondrien (*M*) und agranuläres endoplasmatisches Reticulum (*eR*). Die meisten Pulpareticulumzellen und die Reticulumzellen in den Sinus zeigen eine sehr ähnliche Struktur wie diese Reticulumzelle

Die Mitochondrien sind zahlreich. Zuweilen finden sich 20 oder mehr Mitochondrien in der Schnittebene einer einzigen Reticulumzelle. Die Mitochondrien sind diffus mit herdförmiger Verdichtung über das Cytoplasma verteilt. Der Durchmesser der Mitochondrien beträgt  $0,5\text{--}1\ \mu$ . Sie sind rundlich oder oval, zuweilen in der Längsachse leicht geknickt. Die Cristae mitochondriales, die pro Schnittfläche eines Mitochondriums meist 10 oder mehr betragen, ordnen sich von einem Ende zum anderen in senkrechter Richtung zur Längsachse des Mitochondriums an. Die Elektronendichte der Grundsubstanz innerhalb der Mitochondrien, einschließlich der Cristae, ist etwas dichter als diejenige des Protoplasmas.

Das *agranuläre* endoplasmatische Reticulum ist wohl entfaltet. Dieser Befund wird als charakteristische Struktur der Reticulumzellen bezeichnet. Die Größe des agranulären endoplasmatischen Reticulums zeigt nur geringe Schwankungen. Der Durchmesser beträgt  $0,1\ \mu$ . Es ist vesiculär und über die ganze Zelle verbreitet. Das *granuläre* endoplasmatische Reticulum ist relativ gut entwickelt

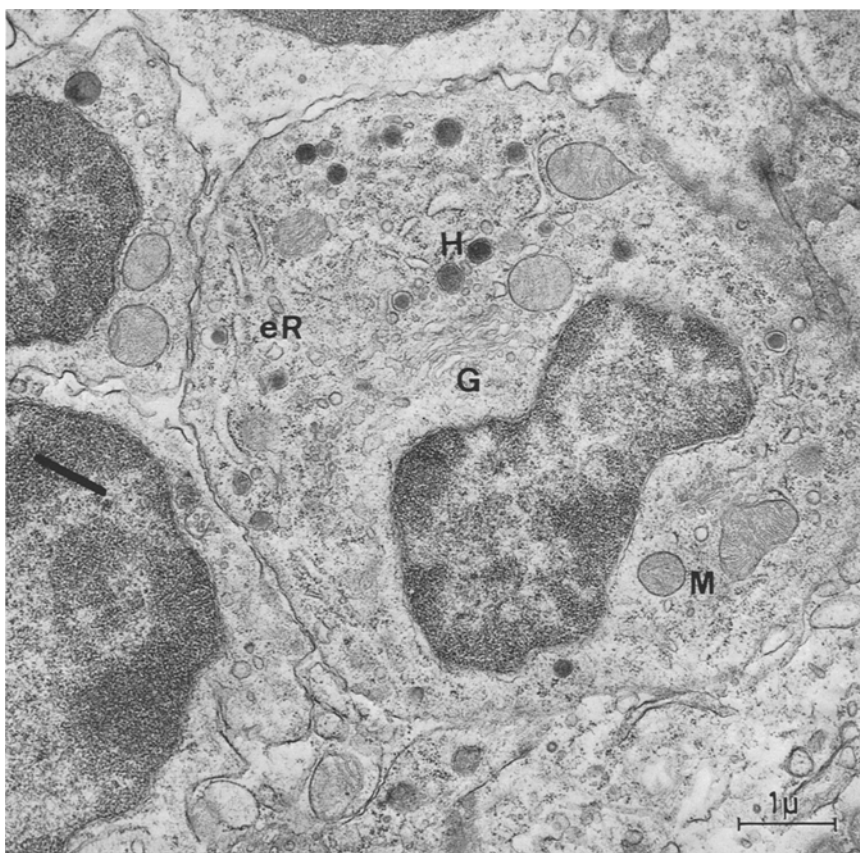


Abb. 2. Femorallymphknoten einer unbehandelten Maus. Pulpareticulumzelle. Man kann in dieser Zelle nebst gut entwickeltem Golgi-Apparat (*G*), Mitochondrien (*M*) und agranulärem endoplasmatischem Reticulum (*eR*) viele H-Körnchen KAJIKAWAS (*H*) erkennen. Reticulumzellen mit dieser Struktur finden sich vor allem auch im Parenchym des gereizten Lymphknotens

und besonders in der Randpartie der Zelle voll entfaltet. Es zeigt meist eine kanalikuläre Gestalt. Zuweilen weist es partielle blasige Erweiterungen auf.

Freie Ribosomen sind spärlich. Der Golgi-Apparat ist im allgemeinen deutlich zu erkennen und zeigt eine gute Membranentwicklung, Vacuolen und Vesikeln. Erstere ist besonders auffallend (Abb. 2).

Im Cytoplasma der Reticulumzellen, besonders im Cytoplasma mit auffallend guter Entwicklung des agranulären endoplasmatischen Reticulums, finden sich gelegentlich ungemein charakteristische Körnchen mit einschichtiger Grenzmembran. Sie sind wahrscheinlich identisch mit Lysosomen (DE DUVE u. Mitarb., 1955; NOVIKOFF, 1956; usw.). Der Durchmesser beträgt 0,1—0,5, gelegentlich 2  $\mu$ . Zuweilen finden sich in diesen Körnchen mehrere vesiculäre Strukturen mit einer höheren Elektronendichte und/oder einigen hellen Vesikeln. Obwohl innerhalb dieser Körnchen eine hohe Elektronendichte besteht, ist zuweilen unmittelbar innerhalb der Grenzmembran eine helle Zone zu sehen. [Diese Körnchen stimmen mit den H-Körnchen von KAJIKAWA (1963) überein.]

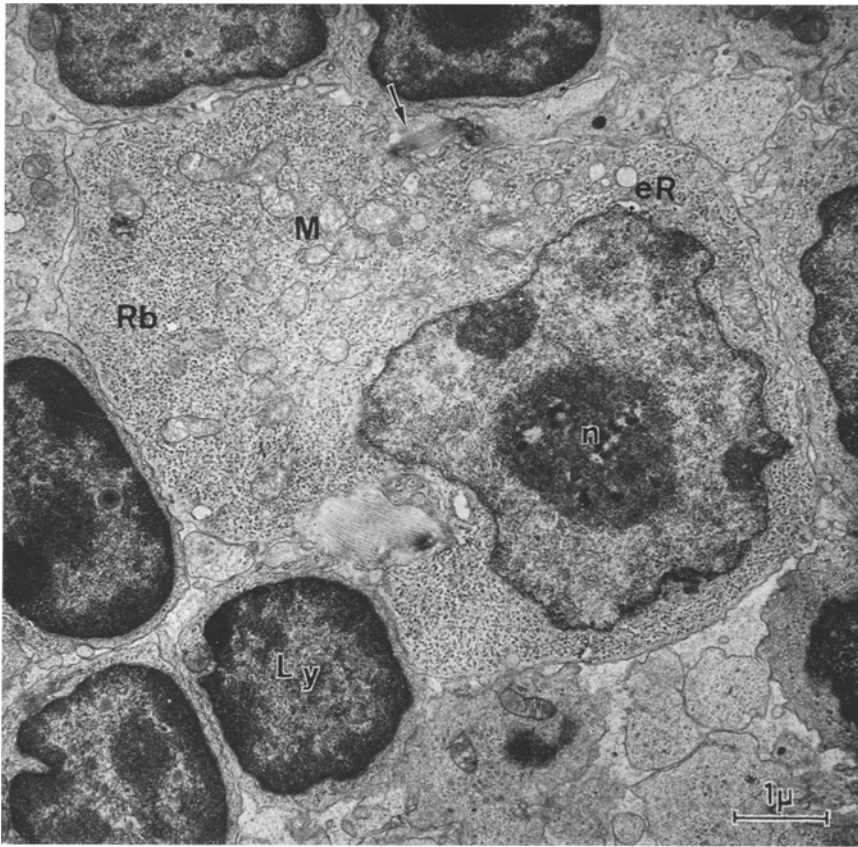


Abb. 3. Femorallymphknoten einer unbehandelten Maus. Pulpareticulumzelle. Diese Sonderform der Reticulumzelle zeigt neben einem auffallend gut entwickelten Nucleolus (*n*) wohl ausgebildete Mitochondrien (*M*) und freie Ribosomen (*Rb*). Diese Zelle hat aber nur spärlich agranuläres endoplasmatisches Reticulum (*eR*). In der Mitte oben berührt die Zelle partiell eine Faser (↓). Die Elektronendichte dieses Zellkernes ist geringer als die der umgebenden Lymphocytenkerne (*Ly*)

Im Cytoplasma der Reticulumzellen, besonders in ihrer Randpartie, finden sich gelegentlich fibrilläre Strukturen. Die Fibrillen sind einige 10 Å dick und gleichen den Tonofibrillen der Epithelzellen.

Die Zahl der Organellen ist von Reticulumzelle zu Reticulumzelle oft verschieden, aber allgemein besitzt die kleine Reticulumzelle mehr Organellen als ein Lymphocyt.

Obgleich man gelegentlich Reticulumzellen sehen kann, die zu den Fasern in einem engen Verhältnis zu stehen scheinen, ist dies kein entscheidender Befund (Abb. 3).

*b) Sinusendothelien.* Elektronenmikroskopisch finden sich sichere Sinusendothelien auf der kapselseitigen und parenchymseitigen inneren Oberfläche des Lymphsinus. Diese Zellen zeigen meist eine spindelförmige Gestalt. Die Zellenden überdecken sich gegenseitig. Es ist weder ein Verbindungskomplex, wie Schlußleiste



Abb. 4. Kontroll-Femorallymphknoten einer unbehandelten Maus. Teil des Randsinus. Die Sinusendothelien (SE) bedecken dachziegelförmig sowohl die kapsel- als auch die parenchymseitige Oberfläche des Sinus. Unmittelbar unter den Sinusendothelien kann man einige Lamellen der Basalmembran (B) sehen

oder Desmosomen, noch ein Ineinandergreifen der protoplasmatischen Fortsätze zu sehen. Besonders im Randsinus gehen diese Zellen in die Endothelien der Lymphgefäße über und bedecken in zusammenhängender Schicht die Innenfläche der Sinus (Abb. 4). Unmittelbar unter den Sinusendothelien, welche die parenchymseitige Oberfläche des Sinus bedecken, ist eine Basalschicht von bis zu  $0,2 \mu$  Dicke vorhanden. Diese Basalschicht besteht meist aus mehreren, zuweilen nur aus einer einzigen Membran. Diese sind oft unterbrochen und dadurch von der Basalmembran der Blutgefäße leicht zu unterscheiden. Nicht selten treten Lymphocyten oder Reticulumzellen durch die Lücken zwischen der Basalmembran oder zwischen den Sinusendothelien in das Lumen des Sinus über (Abb. 5).

Der Kern der Sinusendothelien ist meist spindelförmig. Die Kernmembran ist in ein inneres und äußeres Blatt aufgeteilt. Die Kernsubstanz ist besonders dicht nahe der inneren Membran und locker im Zentrum des Kernraums. Oft finden sich 1 oder 2 Nucleolen und ebenso das spezifische intranucleäre Körnchen.

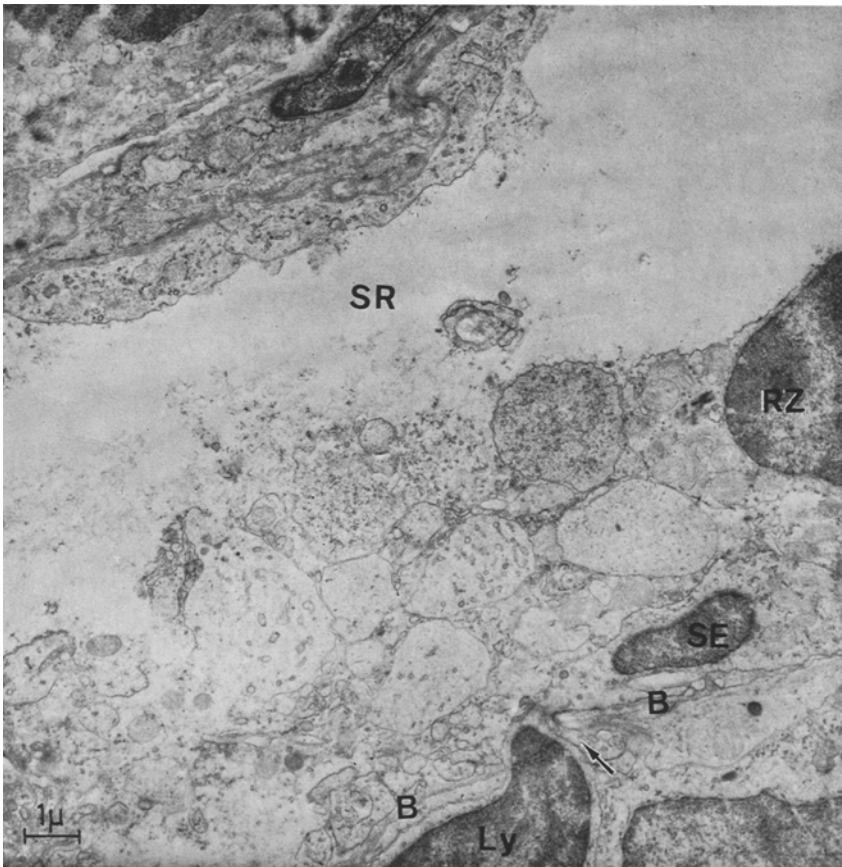


Abb. 5. Kontroll-Femorallymphknoten einer unbehandelten Maus. Teil des Randsinus. Durch die Lücke der unterbrochenen, parenchymseitigen Basalmembran (*B*) dringt ein Ausläufer des Lymphocytenplasmas (*Ly*) in den Sinusraum (*SR*) vor (↗). Die Zellen, die innerhalb der Sinusendothelien lumenwärts liegen, sind von den Sinusendothelien gut unterscheidbar. Es handelt sich um Reticulumzellen. Es sieht aus, als ob sie wie Endothelien die innere Fläche des Sinus bedeckten

Die intracellulären Organellen sind in den Sinusendothelien im allgemeinen etwas weniger reichlich als in der Reticulumzelle. Doch gibt es auch Sinusendothelien, wo sie so reichlich wie in den Reticulumzellen vorkommen. In diesem Falle können die Sinusendothelien nicht sicher von den Reticulumzellen unterschieden werden.

Die Mitochondrien sind zahlreich und über das ganze Cytoplasma verteilt. Besonders reichlich sind sie an den Kernpolen. Die Gestalt der Mitochondrien ist rundlich oder oval. Die Cristae sind gut entwickelt. Die Mitochondrien weisen nicht so selten eine Quellung oder Knickung auf.

Das agranuläre endoplasmatische Reticulum zeigt meist eine klein-vesiculäre Form und verbreitet sich über das ganze Cytoplasma. Gestalt, Größe und intracelluläre Ausbreitung des agranulären endoplasmatischen Reticulums der Sinusendothelien sind nicht nennenswert verschieden vom agranulären endoplasmati-



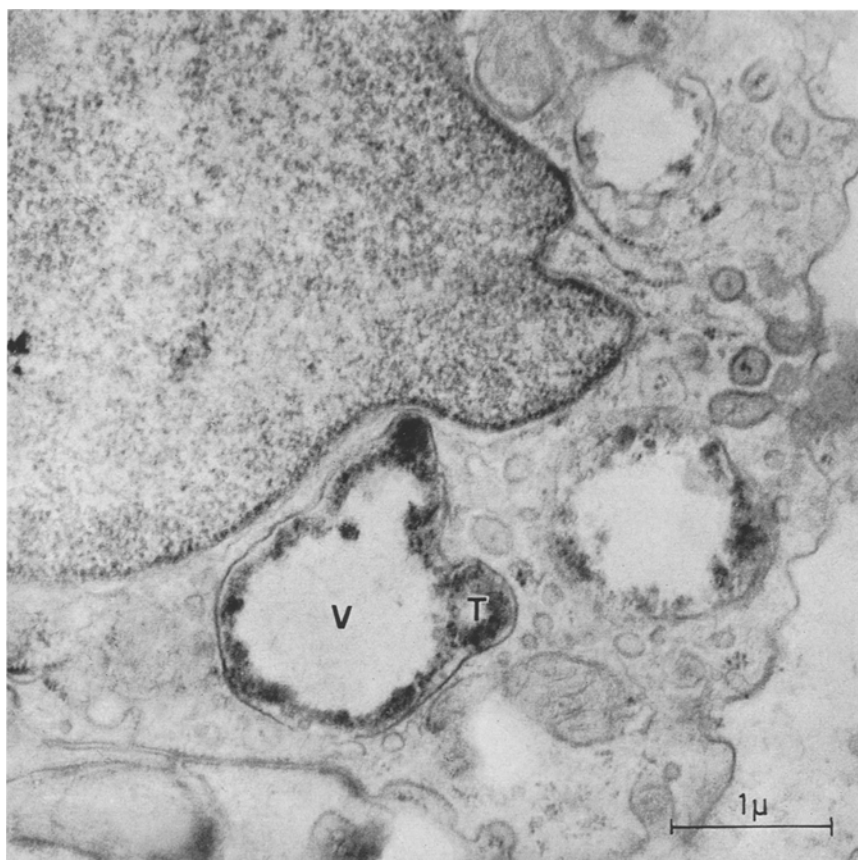


Abb. 6. Femorallymphknoten einer tuschebehandelten Maus. Pulpareticulumzelle mit durch Pino- oder Phagocytose aufgenommenen Granula, 1 Std nach Tuschegebe. In diesen, ursprünglich aus dem agranulären endoplasmatischen Reticulum geformten Vesikeln (V) liegen die Tuschekörnchen (T) wandständig. Die Elektronendichte der zentralen Abschnitte der Vesikel ist sehr gering (vgl. Abb. 7)

schen Reticulum der Reticulumzellen. Das granuläre endoplasmatische Reticulum tritt deutlich hinter dem agranulären endoplasmatischen Reticulum zurück. Dasjenige der Sinusendothelien hat eine kanalikuläre Gestalt und ist im zentralen Cytoplasma lokalisiert.

Die manchmal gruppierten freien Ribosomen sind vorwiegend im Zentrum der Zellen zu beobachten. Diese Verteilung steht im Gegensatz zur lockeren Anordnung der Ribosomen in den Reticulumzellen.

Der Golgi-Apparat der Sinusendothelien ist weniger ausgeprägt als in den Reticulumzellen. Der Golgi-Apparat befindet sich oft nahe bei den Mitochondrien und beim granulären endoplasmatischen Reticulum. Im allgemeinen sind die Golgi-Vesikeln wenig zahlreich und zeigen keine deutliche Entwicklung der Golgi-Membran. Bei den unbehandelten Tieren finden sich in den Sinusendothelien des femoralen Lymphknotens weder phagocytierende Granula noch spezifische Granula noch das sogenannte H-Körnchen.

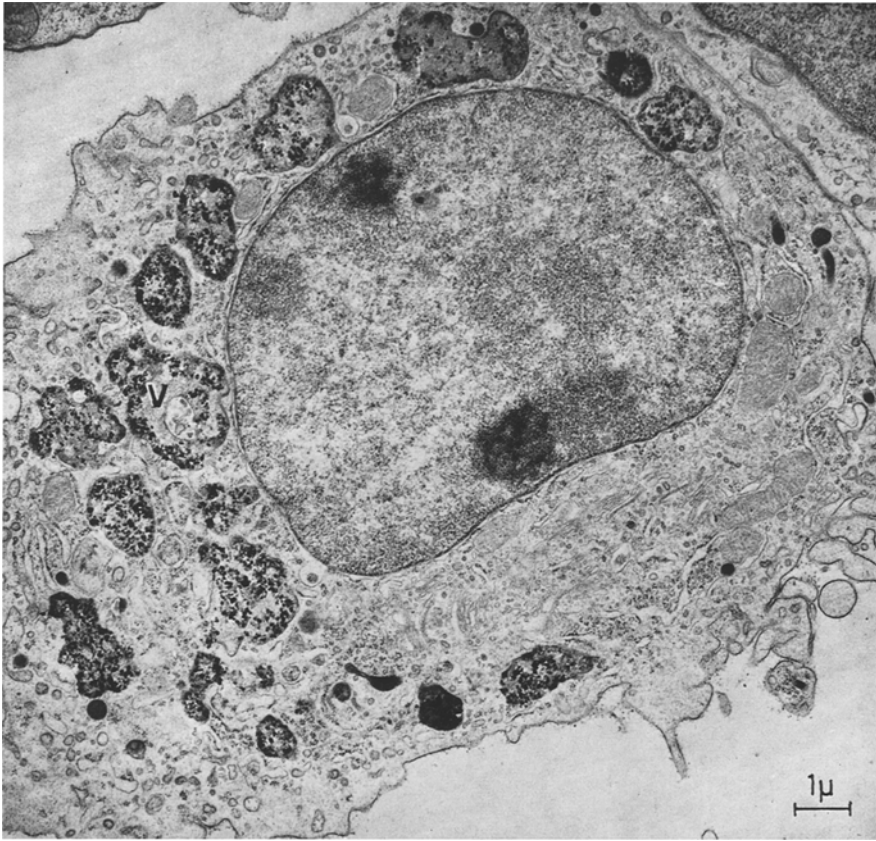


Abb. 7. Femorallymphknoten einer tuschebehandelten Maus. Reticulumzelle des Sinusraums mit durch Pino- oder Phagocytose aufgenommenen Granula, 1 Woche nach Tuschegabe. Diese Vesikel (V) zeigen eine deutliche Vergrößerung und unregelmäßige Form. Die Elektronendichte der zentralen Abschnitte der Vesikel ist erhöht (vgl. Abb. 6)

## 2. Mit Tusche behandelte Tiere

Die Tusche ist spätestens 30 min nach der Verabreichung im Randsinus nachweisbar, in den Reticulumzellen etwa 1 Std nach der Injektion und in den Sinusendothelien erst ungefähr nach 24 Std. Zwischen der intracellulären Menge der Tusche und der Perjodsäure-Schiff-Reaktion gibt es histologisch keine Parallele.

a) *Reticulumzellen.* Die Reticulumzellen, besonders diejenigen mit einer besonderen Entwicklung der Organellen, zeigen eine starke und deutliche Tuscheaufnahme. Es sind mindestens zwei Mechanismen der Tuscheaufnahme zu beobachten.

Häufig sieht man Pinocytose (oder Phagocytose). In diesem Falle treten die Tuschekörnchen, die zuerst auf der Oberfläche der Zellmembran der Reticulumzellen angelagert sind, mit einer Einstülpung derselben in das agranuläre endoplasmatische Reticulum über (Abb. 6). Unmittelbar nach der Aufnahme in das agranuläre endoplasmatische Reticulum zeigen diejenigen Tuschekörnchen, welche

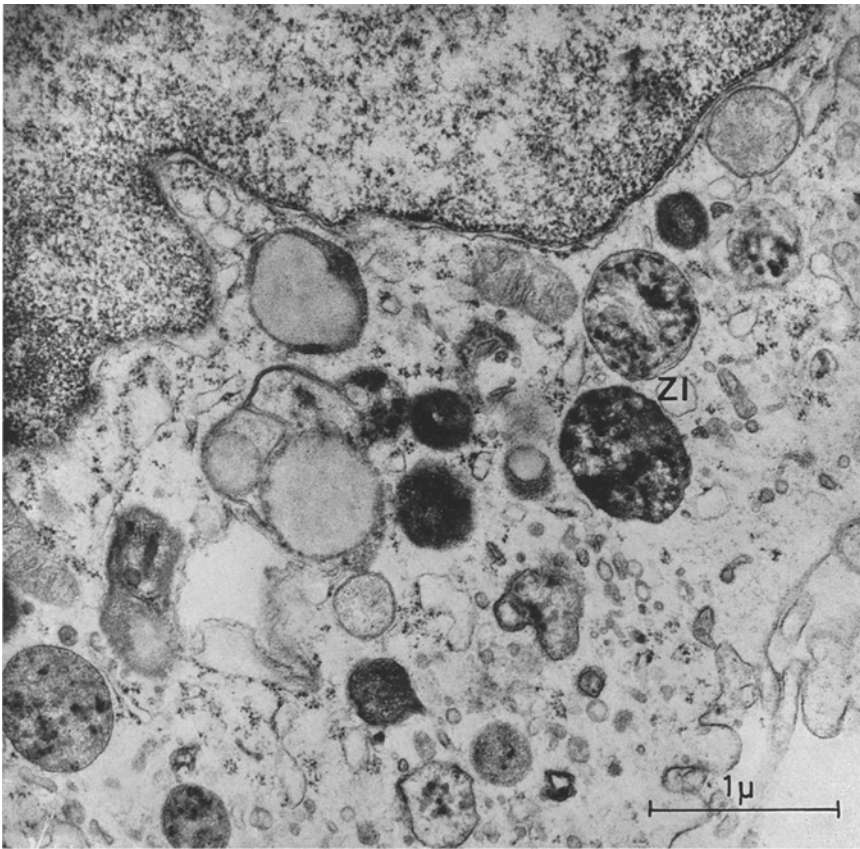


Abb. 8. Femorallymphknoten einer tuschebehandelten Maus. Pulpareticulumzelle mit andersartiger Aufnahme der Tuschekörnchen, 1 Std nach Tushegabe. Die vermutlichen Cytolsomen (ZI) zeigen öfters eine deutliche Doppelmembranstruktur und/oder Cristae. Die Elektronendichte innerhalb der Cytolsomen ist höher als die der intra- und intercellulären Substanzen

auf der inneren Oberfläche desselben gelagert sind, eine höhere Elektronendichte. Dagegen erscheint in dem Gemisch aus Tuschelösung und Körperflüssigkeit innerhalb des agranulären endoplasmatischen Reticulums die Elektronendichte gleich wie in der extracellulären Substanz. Nach und nach verdichten sich diese Abschnitte. Die Pinocytosebläschen vergrößern sich deutlich, wahrscheinlich durch Konfluenz (Abb. 7).

Eine weitere Form der Tuscheaufnahme ist die unmittelbare Aufnahme in die Lysosomen im weiteren Sinne oder/und in die Cytolsomen. Obwohl die Gestalt, die innere Struktur sowie die Elektronendichte dieser Granula verschieden sind, haben sie im ganzen sofort nach Aufnahme der Tusche eine höhere Elektronendichte. In diesen Körnchen verbreitet sich die Tusche regellos ohne besondere Beziehungen zur Grenzmembran. Zuweilen kann man die Tusche hie und da in mitochondrienähnlichen Strukturen mit Doppelmembran und Cristae sehen (Abb. 8).

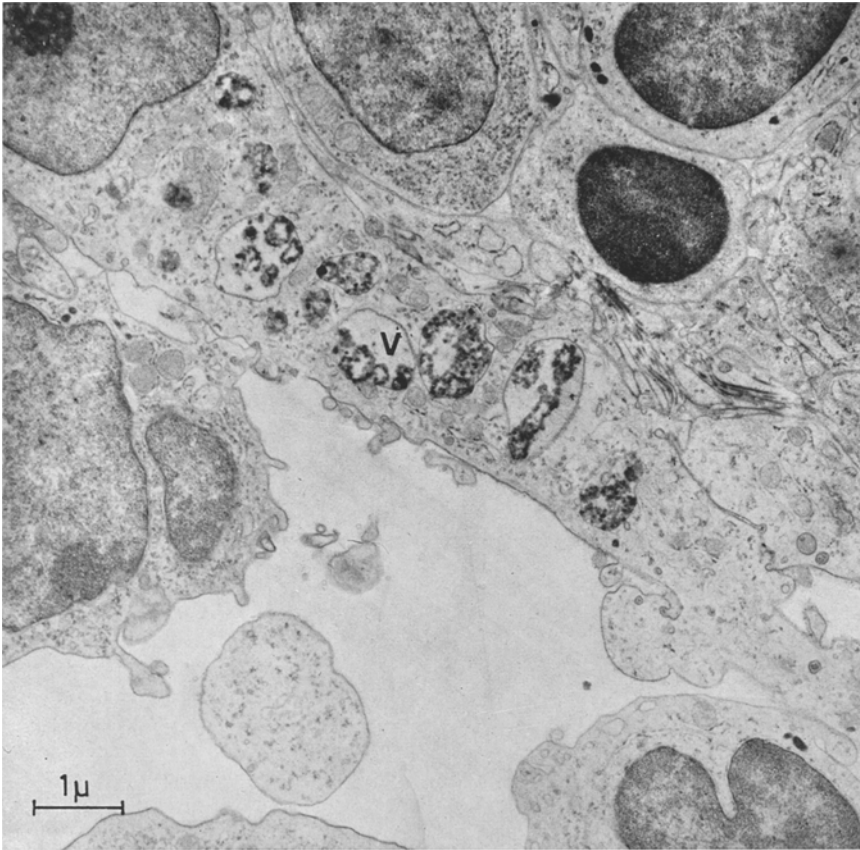


Abb. 9. Femorallymphknoten einer tuschebehandelten Maus. Sinusendothelium mit durch Pino- oder Phagocytose aufgenommenen Granula, 1 Woche nach Tuschegabe. Die Vesikel (V) zeigen keine Vergrößerung, ihre Elektronendichte ist nicht nennenswert erhöht (vgl. Abb. 7)

Obwohl die Reticulumzellen sich gelegentlich zwischen die Sinusendothelien einkeilen, ist es nicht schwierig, auf Grund der submikroskopischen Struktur diese beiden Zellen rein morphologisch zu unterscheiden.

b) *Sinusendothelien*. Die Sinusendothelien können die Tusche lediglich durch Pinocytose (oder Phagocytose) in das Cytoplasma aufnehmen. Die Tuschekörnchen sind daher nur im agranulären endoplasmatischen Reticulum zu erkennen. Diese Pinocytosebläschen zeigen in der ersten Woche weder eine Konzentration noch Konfluenz der inneren, wenig elektronendichten Substanzen. Die Tusche bleibt an der inneren Oberfläche der Pinocytosebläschen haften, ohne dieselben zu vergrößern (Abb. 9).

### B. Enzymhistochemische Untersuchungen

#### 1. Kontrolle. (Tabelle)

a) *Reticulumzellen*. Sämtliche histochemischen Aktivitäten der untersuchten Enzyme ergeben in den Reticulumzellen ein positives Resultat. Besonders ausgeprägt und charakteristisch sind die Aktivitäten der sauren Phosphatase,

Tabelle

Histochemisch untersuchte Enzyme	Zellarten		Blastische Reticulum- zellen des Lymph- knotens	Sinusendo- thelien des axillären und lumbalen Lymph- knotens	Sinusendo- thelien des mesen- terialen Lymph- knotens	Endo- thelien der Blut- capillaren des Lymph- knotens	Endo- thelien der afferenten Lymph- gefäße des Lymph- knotens	Endo- thelien der post- capillären Venulen des Lymph- knotens	Kupffer- sche Stern- zellen der Leber	Sinus- endo- thelien des Knochen- marks
	Große und mittlere Reticulum- zellen des Lymph- knotens	Kleine Reticulum- zellen des Lymph- knotens								
Saure Phosphatase	++ bis ++	++ bis -	+	-	+	bis -	-	+	++ bis ++	++ bis +
Alkalische Phosphatase	++ bis +	+	+	++ bis +	++ bis +	++ bis +	++ bi ++	++ bis +	+	++ bis +
Unspezifische Esterase	++ bis ++	++ bis +	+	-	-	-	-	+	++ bis +	+
Adenosin- triphosphatase	++ bis +	+	+	+	+	+	++ bis ++	++ bis ++	+	+
β-Glucuronidase	++ bis ++	++ bis -	+	-	-	-	-	-	+	+
Succinodehydrogenase, Cytochromoxydase, Lactatdehydrogenase	++ bis +	+	+	+	+	+	++ bis ++	++ bis ++	+	+
Glucose-6-Phosphat- dehydrogenase, NAD-Diaphorase, NADP-Diaphorase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+++ = sehr stark positiv; +++ = stark positiv; ++ = ziemlich stark positiv; + = mäßig stark bis Spur positiv; - = negativ.

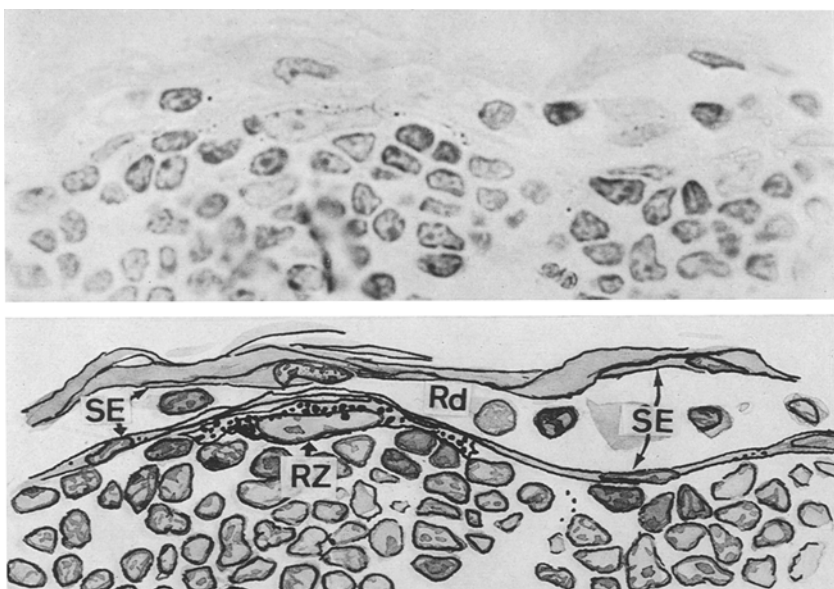


Abb. 10. Saure-Phosphatase-Reaktion eines unbehandelten *mesenterialen* Lymphknotens. Die Reticulumzelle (RZ), welche sich direkt unterhalb des Sinusendothels findet, hat eine lange spindelförmige Gestalt, wie ein Sinusendothelium mit plumpem Cytoplasma. Sie zeigt eine starke Aktivität der sauren Phosphatase (diffuse Dunkelfärbung im Bild). Dagegen zeigen die Sinusendothelien (SE), sowohl kapsel- als auch parenchymseitig, keine Aktivität dieses Enzyms. Jedoch eine dieser Zellen, welche parenchymseitig liegt, zeigt eine schwache, aber deutliche positive Reaktion. Rd Randsinus. Glasmesserschnitte. Ölimmersion

unspezifischen Esterase und  $\beta$ -Glucuronidase (Tabelle). In den großen und mittleren Reticulumzellen, die im Sinusraum und im Parenchym vorhanden sind und ziemlich gut mit den „großen und mittleren Reticulumzellen“ (klassifiziert von LERNERT, 1961) übereinstimmen, sind zahlreiche, grobe, aktive Granula zu beobachten. Sowohl die saure Phosphatase- und die  $\beta$ -Glucuronidase-Reaktion zeigen aktive Granula nahe beim Golgi-Feld oder in Kernnähe, während in der Esterase-Reaktion die groben (vielleicht lysosomalen) aktiven Granula innerhalb der intracellulären Bläschen liegen. Ferner verbreiten sich die aktiven Granula der sauren Phosphatase- und  $\beta$ -Glucuronidase-Reaktion über das ganze Cytoplasma einschließlich der cytoplasmatischen Fortsätze (Abb. 10).

Liegen die Reticulumzellen mit langer, spindelförmiger Gestalt in der Nähe der Sinuswand, so ist es im allgemeinen schwierig, sie mit der gewöhnlichen histologischen Untersuchung von den Sinusendothelien abzugrenzen. Jedoch mittels der enzymhistochemischen Reaktionen zeigen diese Reticulumzellen eine ebenso hohe Aktivität der oben genannten Enzyme wie die Reticulumzellen des Parenchyms. Dagegen ist die Aktivität der alkalischen Phosphatase in den Reticulumzellen, im Gegensatz zu den Sinusendothelien, sehr schwach. Auf Grund dieser beiden Befunde ist eine Unterscheidung zwischen diesen beiden Elementen nicht so schwierig.

Die Aktivitäten der Adenosintriphosphatase, Succinodehydrogenase, Cytochromoxydase, Lactatdehydrogenase, Glucose-6-Phosphatdehydrogenase, NAD-

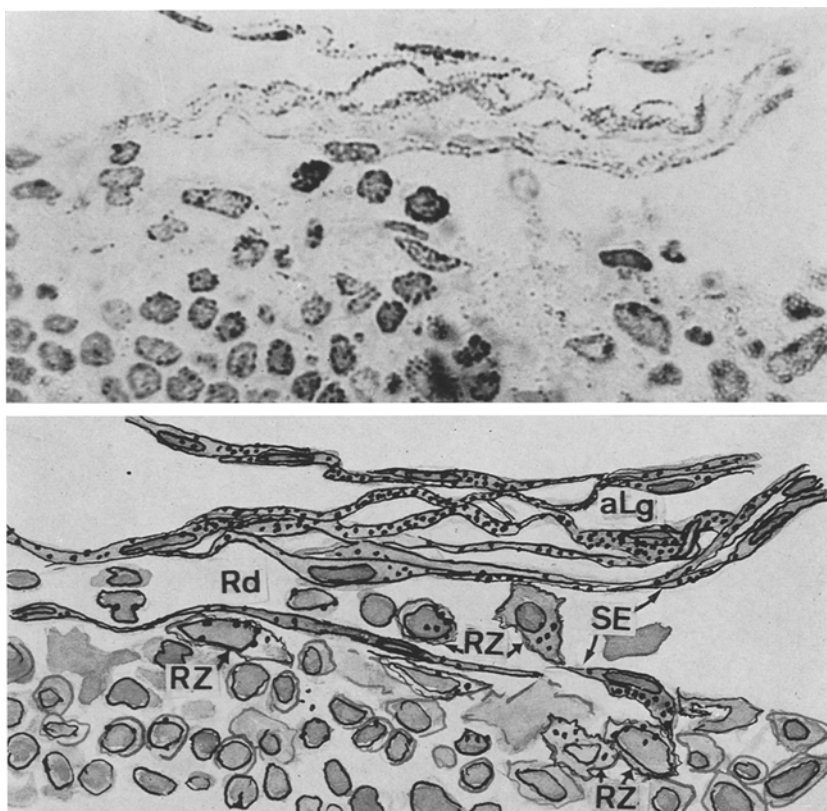


Abb. 11. Alkalische Phosphatase-Reaktion eines axillären Lymphknotens einer unbehandelten Maus. Sie ist am stärksten positiv in den Endothelien des afferenten Lymphgefäßes (*aLg*), in den kapselseitigen Sinusendothelien und in den parenchymseitigen Sinusendothelien (*SE*). Dagegen zeigen die Reticulumzellen (*RZ*) und die Lymphocyten keine oder nur eine Spur Enzymaktivität. Die positiven Granula in den Endothelien der Lymphgefäße und in den Sinusendothelien des Lymphknotens sind vor allem in der Randpartie der Zellen angehäuft. Dagegen sind in den Reticulumzellen diese Granula perinucleär gruppiert. *Rd* Randsinus. Glasmesserschnitte. Ölimmersion

Diaphorase und der NADP-Diaphorase in den Reticulumzellen sind relativ schwach.

*b) Sinusendothelien.* Charakteristisch ist eine hohe Aktivität der alkalischen Phosphatase. Die Granula dieses Enzyms sind fein und verbreiten sich gleichmäßig dicht im Cytoplasma. Die Sinusendothelien, die sich auf der kapselseitigen inneren Oberfläche des Randsinus finden, scheinen eine höhere Aktivität dieses Enzyms zu haben als die auf der parenchymseitigen inneren Oberfläche des Randsinus liegenden oder die Sinusendothelien der Intermediär- und Marksinus (Abb. 11).

Die übrigen enzymhistochemischen Reaktionen sind negativ oder nur schwach zu erkennen.

Hervorzuheben ist der Befund in den Sinusendothelien der mesenterialen Lymphknoten, die häufig eine nur mäßige Aktivität der sauren Phosphatase auf-

weisen. Sie ist stärker in den Sinusendothelien des Randsinus, insbesondere auf der kapselseitigen inneren Oberfläche desselben. Die positiven Granula sind fein und kommen meist in der Nähe des Kernes vor.

c) *Anhang*. Vasculäre Endothelien des Lymphknotens und Reticuloendothelien der anderen Organe. Zum besseren Verständnis nennen wir die Endothelien der Lymphgefäße, der Blutcapillaren und der postcapillären Venulen des Lymphknotens „vasculäre Endothelien“ und die Kupfferschen Sternzellen in der Leber und die Sinusendothelien des Knochenmarks „Reticuloendothelien“.

In diesen Zellen zeigen die hydrolytischen Enzyme ein charakteristisches Verhalten. Die Sinusendothelien der Lymphgefäße weisen eine starke Aktivität der alkalischen Phosphatase und eine schwache der Adenosintriphosphatase auf, die Endothelien der Blutcapillaren eine starke Aktivität der alkalischen Phosphatase und der Adenosintriphosphatase, die postcapillären Venulen eine starke Aktivität der alkalischen Phosphatase sowie der Adenosintriphosphatase und eine nicht so starke Aktivität der sauren Phosphatase sowie der unspezifischen Esterase. Dagegen sind an den Kupfferschen Sternzellen der Leber und den Sinusendothelien des Knochenmarks die Aktivität der sauren und alkalischen Phosphatase, unspezifische Esterase, Adenosintriphosphatase und  $\beta$ -Glucuronidase sichtbar, wobei die Kupfferschen Sternzellen eine besonders hohe Aktivität der sauren Phosphatase und der Esterase zeigen und die Sinusendothelien des Knochenmarks eine besonders ausgeprägte Aktivität der sauren und alkalischen Phosphatase.

## 2. Mit Tusche behandelte Tiere

Wird die Tusche subcutan an der Fußsohle injiziert, so zeigen die lumbalen Lymphknoten, wenn am Rücken injiziert, die mesenterialen Lymphknoten die stärkste Veränderung. In sämtlichen Lymphknoten aller Mäuse ist der Grad der Tuscheaufnahme in den Reticulumzellen stärker als in den Sinusendothelien.

Die enzymhistochemischen Veränderungen nach der Tuschegebe sind folgende:

a) *Reticulumzellen*. Die Aktivität der sauren Phosphatase und der unspezifischen Esterase zeigen im ganzen eine deutliche Verstärkung und die der Adenosintriphosphatase, der Succinodehydrogenase, Cytochromoxydase und der Lactatdehydrogenase in einigen Zellen eine Steigerung. Dagegen ist in der Aktivität der  $\beta$ -Glucuronidase in einigen Zellen eine Abschwächung zu erkennen. Es ist bemerkenswert, daß die großen und mittleren Reticulumzellen mit hochgradiger Tuscheaufnahme einige oder mehrere grobe positive Granula zeigen, die zuweilen gleichmäßig im Cytoplasma verteilt sind. Die Verbreitung steht gelegentlich im Zusammenhang mit den Tuschekörnchen oder ist unabhängig von ihnen. Dagegen zeigen die Reticulumzellen mit schwacher Tuscheaufnahme im allgemeinen feine, im Plasma verstreute Granula. Die positiven Granula in den Tusche-freien Reticulumzellen sind fein und innerhalb des Golgfeldes oder in der Nähe des Kernes in Gruppen angeordnet.

Die kleinen Reticulumzellen, die mit den „kleinen Reticulumzellen“ von LENNERT (1961) beinahe übereinstimmen, zeigen im ganzen nur eine schwache Aktivität sämtlicher untersuchten Enzyme, ausnahmsweise eine negative Aktivität der sauren Phosphatase-Reaktion.

Die Stärke der enzymhistochemischen Reaktion der Succinodehydrogenase, der Cytochromoxydase und der Lactatdehydrogenase steht in direktem Verhältnis



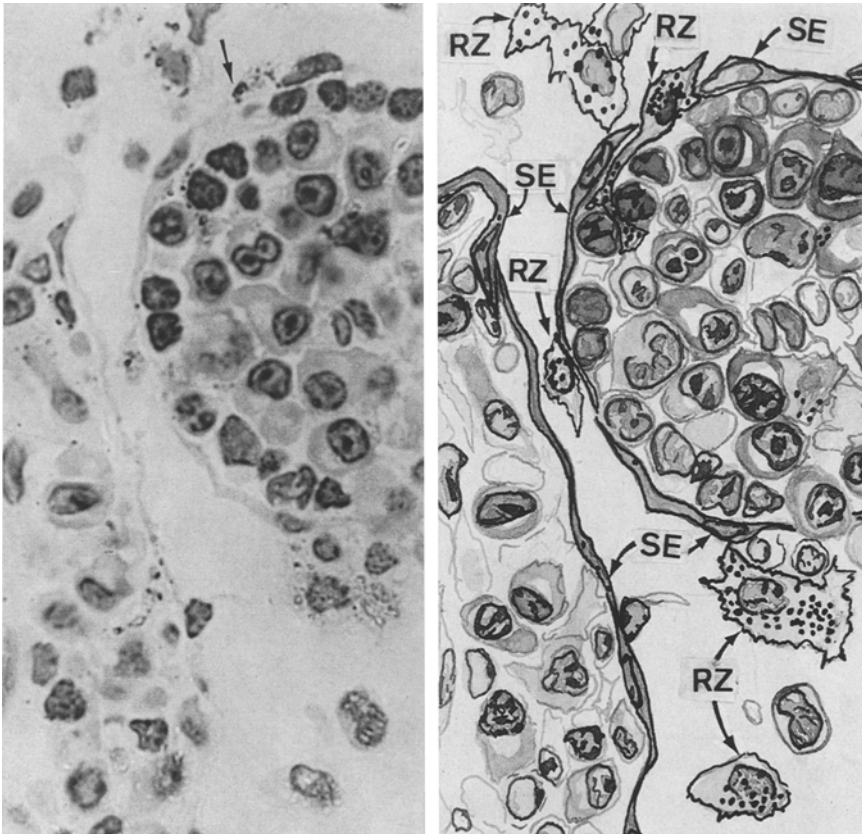


Abb. 12. Saure-Phosphatase-Reaktion in einem zymosangereizten lumbalen Lymphknoten, 2 Tage nach Zymosangabe. Die Reticulumzellen (RZ), die nicht nur im Parenchym, sondern auch im Sinusraum vorhanden sind, zeigen eine starke Aktivität. Gleich verhält sich eine durch eine Lücke zwischen den Sinusendothelien austretende Reticulumzelle ( $\downarrow$ ). Dagegen fehlt, trotz des Reizzustandes, die Aktivität in den Sinusendothelien oder ist nur minimal. Glasmesserschnitte. Ölimmersion

zum Grad der Tuscheaufnahme. Dagegen ist die Intensität der  $\beta$ -Glucuronidase-Reaktion umgekehrt proportional dem Grad der Tuscheeinlagerung.

b) *Sinusendothelien*. Nur die enzymhistochemische Aktivität der unspezifischen Esterase zeigt eine bemerkenswerte Steigerung parallel der Stärke der Tuscheaufnahme. Die Aktivitäten der übrigen untersuchten Enzyme sind gegenüber der Norm unverändert. Es ist überraschend, daß es keinen bemerkenswerten Unterschied in der enzymhistochemischen Aktivität zwischen den Sinusendothelien mit starker, geringer oder fehlender Tusche-phagocytose gibt.

### 3. Mit R.E.S.-Aktivatoren behandelte Tiere

Obwohl die Veränderungen nach Zymosangabe und nach Vaccinegabe quantitativ und qualitativ etwas unterschiedlich sind, sieht man als gemeinsamen Befund eine starke Proliferation der Reticulumzellen sowohl im Sinusraum als im Parenchym.

a) *Reticulumzellen*. Im allgemeinen ist eine starke Steigerung der enzymhistochemischen Aktivitäten der sauren Phosphatase, unspezifischen Esterase sowie  $\beta$ -Glucuronidase und eine leichte Erhöhung der alkalischen Phosphatase, Adenosintriphosphatase, Succinodehydrogenase, Cytochromoxydase sowie Lactatdehydrogenase zu beobachten (Abb. 12). Besonders zeichnen diese Veränderungen die mittleren und großen Reticulumzellen aus. Die positiven Granula der enzymhistochemischen Aktivitäten, besonders der sauren Phosphatase, unspezifischen Esterase und  $\beta$ -Glucuronidase sind ziemlich grob und diffus im Cytoplasma verbreitet. Diese diffuse Verteilung der aktiven Granula in den mit R.E.S.-Aktivatoren gereizten Reticulumzellen steht im Gegensatz zu der lokalisierten Verteilung der aktiven Granula in den Reticulumzellen unter normalen physiologischen Verhältnissen.

b) *Sinusendothelien*. Die Sinusendothelien des axillären und des lumbalen Lymphknotens zeigen eine leichte Steigerung der histochemischen Aktivität der sauren Phosphatase und der Adenosintriphosphatase. Dagegen ist in den Sinusendothelien der mesenterialen Lymphknoten keine nennenswerte Aktivitätssteigerung dieser beiden Enzyme zu erkennen.

Die Aktivitäten der übrigen untersuchten Enzyme sind unverändert.

### Diskussion

ASCHOFF führte 1924 die Bezeichnung „reticuloendotheliales System“ ein für eine Zellgruppe mesenchymalen Ursprungs, die im ganzen Körper verbreitet ist und ausgeprägte Phagocytose fremder corpusculärer Substanzen zeigt. Die entsprechenden Untersuchungen sind von KIYONO (1914) und von LANDAU und MCNEE (1914) durchgeführt worden. Das reticuloendotheliale System ist keine morphologische, sondern eine funktionelle Einheit. Die Zellen, die zu diesem System gehören, haben nicht ein und denselben Ursprung.

ASCHOFF hat das reticuloendotheliale System folgendermaßen eingeteilt.

- |                          |   |                            |   |  |
|--------------------------|---|----------------------------|---|--|
| R.E.S. im weiteren Sinne | { | R.E.S.<br>im engeren Sinne | { | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Die Reticulumzellen der Milzpulpa, der Rindenknötchen und der Markstränge der Lymphknoten und des sonstigen lymphatischen Gewebes.</li> <li>2. Die Reticuloendothelien der Lymphsinus der Lymphknoten, der Blutsinus der Milz, der Capillaren der Leberläppchen (Kupffersche Sternzellen), der Capillaren des Knochenmarks, der Nebennierenrinde und der Hypophyse.</li> <li>3. Die Histiocyten des Bindegewebes.</li> <li>4. Die Splenocyten und farbstoffspeichernden Monocyten (Endotheliroleukocyten, Bluthistiocyten).</li> </ol> |
|--------------------------|---|----------------------------|---|--|

Diese Aschoffsche Deutung beherrschte später die Auffassung der deutschen Schule. ROESSLE (1939), ROULET (1930), ROHR (1953), FRESSEN (1953), LENNERT (1961) usw. nahmen den gleichen Standpunkt ein.

KIYONO (1914) nannte das R.E.S. im Sinne ASCHOFFs „histiocytäres Zellsystem“, da er glaubte, daß, wenn die Reticulumzellen und Sinusendothelien frei werden, sie später zu Histiocyten werden. Nach KIYONO sind morphologische Unterschiede zwischen den Histiocyten, Reticulumzellen und Sinusendothelien nur

örtlich bedingt, d.h. Standortsvarianten. KIYONOS Auffassung stimmt letzten Endes mit derjenigen ASCHOFFS überein.

DOWNEY (1922) beurteilte das R.E.S. auf Grund seiner Forschungen über die verschiedenen Lymphadenopathien und aus Tierversuchen. Auch er hielt die Sinusendothelien wie die Reticulumzellen des Lymphknotens für wesensgleich. Es läßt sich aber nicht leugnen, daß sein Begriff über das R.E.S. von ASCHOFFS Gedanken sehr stark beeinflusst wurde.

Auch die Definitionen von POLICARD (1958) stimmen mit ASCHOFFS Auffassung weitgehend überein. Das gleiche gilt für TJERNBERG (1967). Diese Auffassung einer gemeinsamen Morphologie des R.E.S. wurde auch von den Anatomen übernommen (BARGMANN, 1967; BUCHER, 1967; BLOOM and FAWCETT, 1968; HAM, 1965; VERNE, 1963; usw.).

Vor Schaffung des Begriffs „R.E.S.“ war die Zugehörigkeit der Sinusendothelien des Lymphknotens sehr umstritten. Zwei Auffassungen standen sich gegenüber. a) Die eine sah in den Sinusendothelien die eigentlichen Gefäßendothelien entsprechend den Endothelien der Lymphgefäße (MARIONETTI, 1910; PETERSON, 1925). b) Die andere Auffassung betrachtete sie als abgeplattete Reticulumzellen (SCHUHMACHER, 1912; THEME, 1898; PASCHKIS, 1926).

AKAZAKI (1952), ein Schüler ASCHOFFS, machte Studien über die Histogenese des Reticulosarkoms des Lymphknotens. Sie waren der Beweggrund für seine Untersuchungen am R.E.S. AKAZAKI hat auf Grund der embryologischen, histologischen und klassischen cytologischen Untersuchungen an Menschen- und Tiermaterial eine neue Lehre über das R.E.S. aufgestellt. 1952 hat AKAZAKI seine revidierte Auffassung über das R.E.S. erstmals veröffentlicht und die Verschiedenheit der Reticulumzellen von den Sinusendothelien der hämatopoietischen Organe, einschließlich der Lymphknoten, hervorgehoben. Er meinte, daß ein Unterschied zwischen den Reticulumzellen und den Sinusendothelien gemacht werden muß. Er gab folgende unterscheidende Merkmale an: 1. Im embryonalen Frühstadium haben die Sinusendothelien eine andere Anlage als die Reticulumzellen. 2. Lokalisation und Zellcharakter der Sinusendothelien und Reticulumzellen sind verschieden. 3. Bei den Speicherungsreticulosen, wie Gauchersche oder Niemann-Picksche Krankheit, beteiligen sich nur die Reticulumzellen und verwandeln sich in die sog. Gaucher- oder Niemann-Pick-Zellen. 4. Das Reticulosarkom geht nur aus Reticulumzellen und nie aus Sinusendothelien hervor. Es gibt im histologischen Bild zwischen dem Reticulosarkom und dem Reticuloendotheliom eine deutliche Verschiedenheit.

Trotzdem AKAZAKI zwischen den Sinusendothelien und den Reticulumzellen streng unterschieden hat, betont er, daß die Sinusendothelien der mesenterialen Lymphknoten in dem Rahmen des reticuloendothelialen Systems als Übergangsform zwischen den Reticuloendothelien und den eigentlichen Gefäßendothelien anzusehen seien. Da auch die Sinusendothelien des mesenterialen Lymphknotens ihren Ursprung im Mesenchym haben, zeigen sie im physiologischen Reizzustand, als Zeichen von Funktionssteigerung, eine ziemlich starke Phagocytosetätigkeit. Die von AKAZAKI (1964) revidierte Auffassung des R.E.S. ist folgende:

a) *Reticulumzellen und/oder Histiocyten*. Zu ihnen gehören 1. Die Reticulumzellen der Markstränge, der Follikel und der Sinus des Lymphknotens, die Reticulumzellen der Lymphfollikel, der roten und weißen Pulpa der Milz, des Knochen-

marks, des Thymus, und Tunica propria der Darmschleimhaut. 2. Die Histiocyten des Bindegewebes im allgemeinen und die des ursprünglichen Coeloms (Peritoneum, Pleura, Perikard).

b) *Reticuloendothelien*: Zu ihnen gehören die Kupfferschen Sternzellen der Leber, die Sinusendothelien des Knochenmarks, die Sinusendothelien des äußeren Lymphsinus im Innenohr. (Das Sinusendothel des mesenterialen Lymphknotens ist eine Übergangsform zwischen eigentlichen Gefäßendothelien und Reticuloendothelien.)

In den letzten Jahren erschienen nicht wenige Berichte über elektronenmikroskopische Lymphknotenbefunde, deren Beschreibungen ebenfalls den Unterschied zwischen Reticulumzellen und Sinusendothelien hervorheben. Sowohl FRESSEN u. Mitarb. (1958) wie MOE (1964) unterstützten die althergebrachte europäische und amerikanische Auffassung. Dagegen verteidigten TANAKA (1958), MATSUURA, (1958), ONOE (1966), IMAI (1967) u.a., die alle der japanischen Schule angehören, AKAZAKI'S Theorie.

IMAI hat eine große Arbeit über elektronenmikroskopische Befunde der inguinalen Lymphknoten bei neugeborenen und bis 10 Tage alten Ratten veröffentlicht und über die Beziehung zwischen Reticulumzellen und Sinusendothelien folgendes geschrieben: „Die Sinusendothelien differenzieren sich aus primitivem Endothel und bedecken die innere Oberfläche der Lymphsinus. Dagegen entwickeln sich die Reticulumzellen aus den undifferenzierten Mesenchymzellen, die außerhalb des primitiven Sinus liegen. Der Sinus ist retikulär gebaut. Zuerst besteht diese Netzstruktur aus Sinusendothelien und Fasern. Später drängen sich die Reticulumzellen in die Lücken zwischen den Sinusendothelien oder der Basalmembran der Sinuswand vor und treten in die Sinuslichtung über und legen sich an das oben genannte Netz an. So wird schließlich die Grundstruktur des Sinus vollendet. Die Zellorganellen der Sinusendothelien und der Reticulumzellen sind unter physiologischen Umständen verschieden, aber im Reizzustand wird die Unterscheidung nicht selten schwieriger“.

In unserer eigenen elektronenmikroskopischen Untersuchung war die morphologische Unterscheidung zwischen Sinusendothelien und Reticulumzellen fast immer möglich. Obgleich die Sinusendothelien gelegentlich organellenreich sind und Tuscheaufnahme zeigen, unterscheiden sich die beiden Zellen in folgendem: 1. In der *Gestalt*. Die Reticulumzellen sind vielgestaltig, d.h. rundlich, oval, polygonal, spindelförmig mit oder ohne protoplasmatische Fortsätze. Dagegen zeigen die Sinusendothelien meist nur eine spindlige Gestalt. 2. Die Sinusendothelien berühren beinahe mit ihrer ganzen Breitseite die Basalschicht, die eine größte Dicke von  $0,5\ \mu$  hat und aus 1—5 Basalmembranen besteht. Im physiologischen Zustand kann man kein Ablösen der Sinusendothelien von der Basalschicht beobachten. Dagegen haben die Reticulumzellen in der Regel keine innige Verbindung mit der Basalmembran. 3. Im Cytoplasma der Sinusendothelien sind spezifische Granula selten, in den Reticulumzellen häufig zu beobachten. 4. Die pino- oder phagocytotischen Bläschen in den Sinusendothelien bestehen immer aus dem agranulären endoplasmatischen Reticulum oder haben eine enge Beziehung zu diesem. Dagegen sind in den Reticulumzellen zwei verschiedene Bläschenformen nach Tuschegebe zu beobachten: die eine ist gleich wie in den Sinusendothelien, und die andere ist verschieden davon. Letztere hat eine innige Beziehung zum Lysosom im weiteren Sinne oder Cytolysom der Reticulumzellen. Zwar erscheinen sofort

nach der Tuscheaufnahme in die Zellen die pino- oder phagocytotischen Bläschen sowohl in den Sinusendothelien wie in den Reticulumzellen unter dem gleichen Bild, aber im Laufe der Zeit zeigen nur die Bläschen in den Reticulumzellen eine bemerkenswerte Steigerung der Elektronendichte. Dieser Befund läßt vielleicht den Gedanken aufkommen, daß zwischen den Sinusendothelien und den Reticulumzellen nicht nur ein Unterschied im Phagocytosemechanismus, sondern auch im Verdauungsmechanismus (wenn dieser Ausdruck erlaubt ist) der aufgenommenen Substanzen besteht.

Soweit den Autoren das vorliegende Schrifttum bekannt ist, gibt es bis heute kaum bemerkenswerte enzymhistochemische Mitteilungen über den Unterschied zwischen den Reticulumzellen und den Sinusendothelien. Nach den Untersuchungsergebnissen der Verfasser sind diese zwei Zellelemente enzymhistochemisch gut unterscheidbar. Enzymhistochemisch zeigen die Reticulumzellen im allgemeinen eine verschieden starke Aktivität der untersuchten Enzyme und besonders der sauren Phosphatase, der unspezifischen Esterase und der  $\beta$ -Glucuronidase. Sie alle sind stark erhöht. Dagegen zeigen die Sinusendothelien nur eine hohe Aktivität der alkalischen Phosphatase und keine oder sehr schwache Aktivität der übrigen Enzyme. Im experimentellen Reizzustand sind die enzymhistochemischen Veränderungen qualitativ und quantitativ zwischen den Reticulumzellen und den Sinusendothelien etwas anders verteilt. Besonders interessant sind folgende Befunde: Die saure Phosphatase, die eine innige Beziehung zur Aufnahme von Fremdkörpern hat, zeigt in den Reticulumzellen eine starke und konstante Aktivität, dagegen fehlt diese in den Sinusendothelien. Ausgenommen sind die Sinusendothelien des mesenterialen Lymphknotens, die eine nur schwache Aktivität dieses Enzyms zeigen. Die alkalische Phosphatase läßt, da sie eine enge Beziehung zur Permeabilität und zum Transport der Stoffe hat, im Gegensatz zur sauren Phosphatase in den Sinusendothelien eine starke Aktivität und in den Reticulumzellen im allgemeinen eine schwache Aktivität erkennen. Diese verschiedenen Befunde bei beiden Zellarten lassen vermuten, daß die beiden Zellformen eine verschiedene Funktion haben.

Die nächste Frage ist, ob man die Sinusendothelien in den Rahmen des R.E.S. einschließen kann. Vor kurzem teilte ONOE mit, daß die submikroskopische Struktur zwar im physiologischen Zustand bei Sinusendothelien und bei den eigentlichen Gefäßendothelien sehr ähnlich sei, daß aber nach der Reizung die Sinusendothelien einen ähnlichen Zellcharakter wie die Reticuloendothelien hätten. TAKIKAWA (1963) behauptet auf Grund der enzymhistochemischen Untersuchung, daß die Sinusendothelien des mesenterialen Lymphknotens und die Sinusendothelien der übrigen Lymphknoten getrennt behandelt werden müssen.

Nach den Untersuchungen der Verfasser ist zwar im allgemeinen elektronenmikroskopisch und enzymhistochemisch die Unterscheidung zwischen Reticulumzellen und Sinusendothelien nicht schwierig. Aber elektronenmikroskopisch zeigen letztere selbst im physiologischen Zustand manchmal reichlich intracelluläre Organellen und auch eine starke Tuschephagocytose. Diese Befunde machen es wahrscheinlich, daß die Sinusendothelien nicht nur rein morphologisch, sondern auch funktionell eine auffallendere Ähnlichkeit mit den Reticulumzellen als andere Zellelemente des Lymphknotens, z. B. Lymphocyten, Plasmazellen und die eigentlichen Gefäßendothelien usw., haben.

Enzymhistochemisch haben die Sinusendothelien des Lymphknotens einerseits in der Aktivität der alkalischen Phosphatase mit den eigentlichen Gefäßendothelien, besonders den Capillarendothelien Ähnlichkeit und andererseits in der Aktivität der  $\beta$ -Glucuronidase mit den Reticuloendothelien, besonders den Kupfferschen Sternzellen. Ferner zeigen die Sinusendothelien des mesenterialen Lymphknotens selbst im physiologischen Zustand eine leichte, aber sichere Aktivität der sauren Phosphatase, und im Reizzustand zeigen selbst die Sinusendothelien des axillären und des lumbalen Lymphknotens eine positive Aktivität dieses Enzyms.

Auf Grund dieser Befunde kann man verstehen, daß die Sinusendothelien des Lymphknotens funktionell zwischen den eigentlichen Gefäßendothelien und den Reticuloendothelien liegen. Die Sinusendothelien des mesenterialen Lymphknotens haben im physiologischen Zustand eine ähnliche Tätigkeit wie die Reticulumzellen und die Kupfferschen Sternzellen. Wenn aber die Sinusendothelien der übrigen Lymphknoten gereizt werden, zeigen auch sie funktionell ähnliche Fähigkeiten wie die Reticuloendothelien.

Wenn die Definition des reticuloendothelialen Systems für den physiologischen Zustand gilt, können die Sinusendothelien des mesenterialen Lymphknotens in diesen Rahmen eingeschlossen werden. Von diesem Standpunkt aus verstehen die Verfasser auch die Ansicht AKAZAKI. Die Vorstellung über das R.E.S. enthält noch viele ungeklärte Probleme, nicht nur in bezug auf die Sinusendothelien, sondern auch auf die Reticuloendothelien, Reticulumzellen und Histiozyten. Eine weitere, genaue Überprüfung ist notwendig.

### Literatur

- AKAZAKI, K.: Reticuloendothelial system. *Acta path. jap.* **3**, 113—142 (1952).
- T. WATANUKI, and T. TESHIMA: A further consideration on the concept of the reticuloendothelial system. In: *The reticuloendothelial system. Morphology, immunology and regulation. Proceedings of the 4th internat. symposium on R.E.S. (Otsu and Kyoto, Japan)*, p. 3—16. Tokyo: Maruzen 1964.
- ASCHOFF, L.: Das reticulo-endotheliale System. *Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.* **26**, 1—118 (1924).
- BARGMANN, W.: Lymphknoten und reticuloendotheliales System. In: *Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen*, 12. Aufl., S. 277—284 u. 312—314. Stuttgart: Georg Thieme 1967.
- BLOOM, W., and D. W. FAWCETT: The cellular elements of loose connective tissue and lymphatic organs. In: *A textbook of histology*, 7th ed., p. 141—153 and 392—402. Philadelphia-London-Toronto: W. B. Saunders Co. 1968.
- BUCHER, O.: Lymphknoten und reticuloendotheliales System. In: *Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, mit Berücksichtigung der Histopathologie und der mikroskopischen Diagnostik*, 5. Aufl., S. 274—278 u. 287—289. Bern u. Stuttgart: Hans Huber 1967.
- BURSTONE, E. M.: The cytochemical localization of esterase. *J. Nat. Cancer Inst.* **18**, 167—184 (1958a).
- Histochemical comparison of naphthol AS—MX phosphate for the demonstration of phosphatase. *J. Nat. Cancer Inst.* **20**, 601—615 (1958b).
- Histochemical demonstration of cytochrome oxidase with new amine reagent. *J. Histol. Cytol.* **8**, 63—73 (1960).
- COHEN, R. B.: Histochemical localization and metabolic significance of glucose-6-phosphate dehydrogenase system in adrenal cortex. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **101**, 405—407 (1959).
- DE DUVE, C.: Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue. *Biochem. J.* **60**, 604—617 (1955).

- DOWNNEY, H.: The structure and origin of the lymphsinus of mammalian lymph nodes and their relations to endothelium and reticulum. *Haematologia* **3**, 431—468 (1922).
- FISCHMAN, W. H.: The cytological demonstration of  $\beta$ -glucuronidase employing AS—BI glucuronide and hexazonium pararosanilin. *J. Histol. Cytol.* **12**, 293—305 (1963).
- FRESEN, O.: Die Pathomorphologie des retothelialen Systems. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **37**, 26—85 (1953).
- , u. H. J. WELLENSIEK: Zur elektronen-optischen Struktur des Lymphknotens. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **42**, 353—365 (1958).
- GOMORI, G.: Acid phosphatase. In: *Microscopic histochemistry. Principle and practice* (1st ed.), p. 189—194. Chicago: The University of Chicago Press 1953.
- HAM, W. H.: Makrophages and Lymph nodes. In: *Histology*, 5th ed., p. 231—234 and 313—327. London: Pitman and Philadelphia: J.B. Lippincott Co. 1965.
- IMAI, Y.: An electron microscopic study on reticuloendothelial cells in the lymph node of rat. *Acta path. jap.* **17**, 275—286 (1967).
- KAJIKAWA, K.: Electron microscopic studies on histiocytes. *Proc. Jap. Soc. R.E.S.* **3**, 107—122 (1963).
- KIYONO, K.: Die vitale Karminspeicherung. Jena: Fischer 1914.
- LANDAU, M., u. J. W. MCNEE: Zur Physiologie des Cholesterinstoffwechsels. *Beitr. path. Anat.* **58**, 667—699 (1914).
- LENNERT, K.: Cytologie des ruhenden, aktivierten und entzündeten Lymphknotens. In: *Handbuch der spezifischen pathologischen Anatomie und Histologie. I/3 Lymphknoten. Diagnostik in Schnitt und Ausstrich. Bdteil A. Cytologie und Lymphadenitis.* S. 25—141. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961.
- MARONETTI, L.: Über das Verhalten der Plasmazellen und der Gefäße in den Lymphdrüsen nach Durchschneidung der Nerven. *Virchows Arch. path. Anat.* **202**, 321—341 (1910).
- MATSUURA, S.: Elektronenmikroskopische Untersuchung über Histogenese des tuberkulösen Tuberkels im Lymphknoten. I. Elektronenmikroskopische Beobachtung über Lymphknoten des normalen Kaninchens. *Kobe-Idai-Kiyo (Jap.)* **13**, 549—560 (1958).
- MOE, R. E.: Electron microscopic appearance of the parenchyma of lymph nodes. *Amer. J. Anat.* **114**, 341—369 (1964).
- NACHLAS, M. M.: A histochemical method for the demonstration of diphosphopyridine nucleotide diaphorase. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 29—38 (1958).
- NOVIKOFF, A. B.: Electron microscopy of lysosome-rich fractions from rat liver. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, Suppl., 179—184 (1956).
- ONOE, T., H. FUSE u. M. MORI: Elektronenmikroskopische Untersuchung über das Endothelium des lymphatischen Sinus des Lymphknotens. *Proc. Jap. Soc. R.E.S. (Jap.)* **6**, 144—145 (1966).
- PASCHKIS, K.: Über die Rolle des Reticulums im reticuloendothelialen System. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **37**, 99—105 (1926).
- PETERSON, H.: Über die Endothelphagozyten des Menschen. *Z. Zellforsch.* **2**, 112—120 (1925).
- POLICARD, A., et C. A. BAUD: Les ganglions lymphatiques et leurs cellules. In: *Les structures inframicroscopiques normales et pathologiques des cellules et des tissus*, p. 288—290. Paris: Masson & Cie 1958.
- ROESSLE, R.: Das Retothelsarkom der Lymphdrüsen. Seine Formen und Verwandtschaften. *Beitr. path. Anat.* **103**, 385—415 (1939).
- ROHR, K.: Das reticulohistiocytäre System und seine Erkrankungen vom klinischen Standpunkt. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **37**, 127—139 (1953).
- ROULET, F.: Das primäre Retothelsarkom der Lymphknoten. *Virchows Arch. path. Anat.* **277**, 15—47 (1930).
- Weitere Beiträge zur Kenntnis des Retothelsarkoms der Lymphknoten und anderer Lymphoiden-Organen. *Virchows Arch. path. Anat.* **286**, 702—732 (1932).
- SCHUMACHER, S., von: Bau, Entwicklung und systemische Stellung der Blutlymphdrüsen. *Arch. mikr. Anat.* **81**, 92—150 (1912).
- SIEGMUND, H.: Reizkörpertherapie und aktives mesenchymatisches Gewebe. *Münch. med. Wschr.* **70**, 5—6 (1923).

- TAKIKAWA, K.: Cytological study of the reticuloendothelial system from the optical microscopic standpoint. *Proc. Jap. Soc. R.E.S.* **3**, 79—85 (1963).
- TANAKA, H.: Comparative cytologic studies by means of an electron microscope on monocytes, subcutaneous histiocytes, reticulum cells in the lymph nodes and peritoneal macrophages. *Ann. Rep. Inst. Virus Res. Kyoto Univ. Ser. A* **1**, 87—149 (1958).
- THEME, R.: Endothelien als Phagocyten aus den Lymphdrüsen von *Macacus cynomolgus*. *Arch. mikr. Anat.* **52**, 820—842 (1898).
- TJERNBERG, B.: The histology of the lymph node. In: Edit. by A. RÜTTIMANN, *Progress in lymphology. Proceedings of the internat. symposium on lymphology (Zürich, Switzerland)*, p. 71—73. Stuttgart: Georg Thieme 1967.
- VERNE, J.: Ganglions lymphatiques. In: *Précis d'histologie*, deuxième ed., p. 288—295. Paris: Masson & Cie 1963.
- WACHSTEIN, M.: Adenosine triphosphatase activity in melanocytes and epidermal cells of human skin. *J. Histol. Cytol.* **11**, 465—473 (1963).

Priv.-Doz. Dr. med. T. WATANUKI  
Pathologisches Institut der Universität Tohoku  
Kita-4-Bancho 85, Sendai, Japan