

INTERNATIONALES SYMPOSION ÜBER KLINISCHE CYTODIAGNOSTIK

IN ERLANGEN AM 1./2. MÄRZ 1957

HERAUSGEGEBEN VON

PROF. DR. MED. N. HENNING

Direktor der Med. Univ.-Klinik, Erlangen

UND

PRIV.-DOZ. DR. MED. S. WITTE

Wiss. Assistent der Med. Univ.-Klinik, Erlangen

Mit 146 Abbildungen
in 191 Einzeldarstellungen



GEORG THIEME VERLAG · STUTTGART

INTERNATIONALES SYMPOSIUM ÜBER KLINISCHE CYTODIAGNOSTIK

IN ERLANGEN AM 1./2. MÄRZ 1957

HERAUSGEGEBEN VON
PROF. DR. MED. N. HENNING

Direktor der Med. Univ.-Klinik, Erlangen

UND

PRIV.-DOZ. DR. MED. S. WITTE

Wiss. Assistent der Med. Univ.-Klinik, Erlangen

Mit 146 Abbildungen
in 191 Einzeldarstellungen

19



58

GEORG THIEME VERLAG · STUTTGART

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten

© Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1958 · Printed in Germany

Satz und Druck VEB Ofizin Andersen Nexö in Leipzig

INTERNATIONALES SYMPOSION
ÜBER KLINISCHE CYTODIAGNOSTIK

Begrüßungsansprache

Von N. Henning

Zu Beginn unseres Symposions für klinische Cytodiagnostik heiße ich Sie auf das herzlichste willkommen.

Ein Symposium ist kein repräsentativer Kongreß. Infolgedessen glaube ich, in Ihrem Sinne zu handeln, wenn ich auf eine lange programmatische Einführungsrede verzichte. Ich will mich vielmehr darauf beschränken, in kurzen Zügen die historische Entwicklung unseres Wissensgebietes aufzuzeigen und die aktuelle Problemstellung zu umreißen.

Ich gehe aus von der Definition der klinischen Cytodiagnostik. Wir verstehen darunter den Vorgang, daß einzeln oder in Gruppen liegende Zellen, die spontan oder durch künstliche Maßnahmen aus ihrem Verbandsverbande gelöst, frisch oder gefärbt nach den verschiedenen Möglichkeiten der modernen Mikroskopie untersucht werden. Die ersten systematischen Bemühungen dieser Art gehen zurück auf die 20er Jahre unseres Jahrhunderts. Ich erwähne die Namen der Pioniere Quensel, Papanicolaou und Zadek, weiterhin Guthrie, Forkner und Pawlovski. Es ist nicht uninteressant, festzustellen, daß diese frühen Arbeiten praktisch unbeachtet blieben, trotzdem die hämatologische Cytodiagnostik, das Studium der Zellen des strömenden Blutes, durch Ehrlich, Naegeli, Pappenheim gewaltige Erfolge aufzuweisen hatte, die letztlich auf der systematischen Erforschung der einzeln liegenden Zellen nach Anfärbung beruhte.

Die klinische Cytodiagnostik entstand höchstwahrscheinlich aus dem Bedürfnis der Kliniker, ein morphologisches Substrat in jenen Krankheitsfällen zu gewinnen, in denen sie auf die Hilfe des Pathologen verzichten mußten, weil sie ihm kein Gewebestückchen zur Verfügung stellen konnten.

Wir selbst stießen zur Cytodiagnostik von der Hämatologie her. 1923 veröffentlichte C. Seyfarth seine Methode der Sternaltrepanation, die uns erstmalig Zellmaterial aus dem Knochenmark zur Verfügung stellte. Von dem Knochenmark wandten wir uns den vergrößerten Lymphdrüsen zu, erhielten aber häufig kein Material, bis uns eines Tages, es war 1929, Forkner besuchte und uns seine besondere Punktionsmethode mitteilte.

Die Punktion der Lymphdrüsen gewann schon in den 30er Jahren neue Anhänger. Ich nenne Stahel und Tischendorf. Aber ein allgemeineres Interesse wurde erst nach dem Kriege wach, vorzugsweise angeregt durch die gynäkologischen Arbeiten von Papanicolaou und Taut 1946. Die Cytodiagnostik wurde auf alle erreichbaren Organe ausgedehnt.

Seitdem hat sich ein reiches Schrifttum in vielen Ländern entwickelt. Das Hauptproblem sehen viele Forscher in der Tumordiagnostik. Die Ergebnisse sind manchmal eindeutig überzeugend, manchmal zweifelhaft, manchmal bei sicherem Tumor negativ. Dieses Schicksal teilt die Methode mit vielen anderen diagnostischen Maßnahmen des Klinikers. Manchmal aber liefert uns die Cytodiagnostik den einzigen

Beweis für das Vorhandensein eines bösartigen Tumors. Ich erinnere an den Fall von Papanicolaou, wo er bei einer Hämaturie im Urin des linken Ureters Tumorzellen fand. Die Röntgenmethode zeigte nichts, die operativ freigelegte Niere erwies sich als normal. Auch nach operativer Spaltung der Niere ergab sich kein pathologischer Befund. Auf das Drängen von Papanicolaou wurde die Niere trotzdem entfernt. Histologisch fand sich dann ein kleines Carcinom.

Ich sagte vorhin, unsere Methode zeitigte manchmal eindeutig positive, manchmal zweifelhafte und manchmal negative Resultate in Fällen, die später als sichere Malignome erkannt wurden. Wenn wir von positiven Resultaten sprechen, so müssen wir uns im allgemeinen mit dem Begriff der „Tumorzellen“ begnügen, ohne daß wir etwas über die Art des Tumors aussagen können. Manchmal allerdings gelingt uns eine histologische Aussage, so etwa beim Plattenepithelcarcinom oder beim Melanosarkom.

Der cytologische Steckbrief der Tumorzellen hat vielfach die Kritik der Pathologen geweckt. Ich sehe ein wesentliches Problem unseres Symposions darin, hierüber zu diskutieren. Die hämatologische Cytodiagnostik ist von Klinikern entwickelt worden. Die Pathologen bewiesen damals ein freundliches Wohlwollen. Für die nicht hämatologische Cytodiagnostik erhoffen wir neben der bisher gezeigten fruchtbaren Kritik nicht nur jene gütig duldende Passivität gegenüber morphologischen Amateuren, sondern eine aktive Mitarbeit. Anzeichen für derartige Bestrebungen bahnen sich an, besonders auch bei uns in Erlangen. Daß die Cytodiagnostik neben der Tumordiagnostik viele andere Erkenntnisse gebracht hat, wird aus den einzelnen Vorträgen hervorgehen.

Wenn Sie das Programm studieren, so werden Sie bemerken, daß die Untersuchung des Knochenmarks sowie die gynäkologische und die neurologische Cytodiagnostik unberücksichtigt blieben. Das hat seine Gründe. Die Cytologie des Knochenmarks hätte uns zu tief in die Hämatologie geführt. Die anderen beiden Gebiete hätten räumlich unsere Veranstaltung überschritten, die durch den Rahmen der inneren Medizin bestimmt war.

Sollte dieser erste Versuch einer Aussprache zwischen den Cytologen erfolgreich sein, so denken wir an einen Zusammenschluß auf internationaler Basis, um unser Gebiet durch ständigen Gedankenaustausch zu fördern. Vielleicht trägt unsere Veranstaltung aber auch dazu bei, das Interesse bei jenen Gästen zu wecken, die der Materie noch fremd gegenüberstehen. Die Cytophilie ist der erste Schritt zur Cytologie.

Im Laufe von 3 Jahrzehnten hat sich, zunächst unbeachtet und im Schatten größerer Ereignisse, ein umfangreiches Gebiet entwickelt, an dessen Bau die Forscher vieler Kulturländer mitgewirkt haben, bis endlich auch weitere Kreise der Ärzteschaft die Möglichkeiten unserer Methoden erkannten. Ich glaube, daß die heutige Situation treffend gekennzeichnet werden kann durch ein Wort Shakespeares: „Wie manches wird durch seine Zeit gezeitigt zu echtem Preis und zur Vollkommenheit.“ Damit erkläre ich unser Symposion für eröffnet.

Inhaltsverzeichnis

Begrüßungsansprache: N. Henning, Erlangen	VII
I. Allgemeine cytologische Fragen	1
Lettré, H., Heidelberg: Der Feinbau der Zelle ¹	
Braunsteiner, H., Wien: Elektronenmikroskopische Befunde an Zellen	1
Trapp, L., Oberkochen: Ultraviolett-mikroskopie und Mikrospektroskopie	11
Schümmelfeder, N., Bonn: Cytochemische Befunde	17
Heckner, F., Göttingen: Cytochemische Darstellung von Kohlenhydraten	35
Kosenow, W., Münster (Westf.): Vitale Fluoreszenzmikroskopie und Zell- morphologie	36
Leibetseder, F., Innsbruck: Karyometrische Untersuchungen in Milz- und Lymph- knotenpunktaten	39
Mohr, H.-J., Münster (Westf.): Allgemeine cytodiagnostische Fragen	42
Wittekind, D., Heidelberg: Fluoreszenzmikroskopische Erfahrungen	44
Diskussion	48
II. Praktisch-klinische Fragen (Mikroskopische Technik)	52
Michel, K., Oberkochen: Die neuere Entwicklung der mikroskopischen Technik	52
Undritz, E., Basel: Praktische Erfahrungen mit der Herstellung und Reproduktion farbiger Mikrophotographien von Ausstrich- und Tupfpräparaten	61
Undritz, E., Basel: Mitose und Polyploidie	75
Sandkühler, St., Heidelberg: Erfahrungen mit der Mikrophotographie	81
Diskussion	82
III. Spezielle Cytodiagnostik	85
Begemann, H., Freiburg/Br.: Lymphknotencytologie	85
Lüdin, H., Basel: Milzcytologie	92
Riegel, R., Berlin-Neukölln: Cytologie der serösen Höhlen	99
Heckner, F., Göttingen: Diskussionsbemerkung zur Lymphknotencytologie	115
Leibetseder, F., Innsbruck: Zur Cytologie der Organpunktate	117
Zach, J., Würzburg: Befunde zur Cytologie der Lymphknoten und der serösen Höhlen	119
Diskussion	127
Bock, H.E., Marburg/L.: Lebercytologie	129
Henning, N., und Witte, S., Erlangen: Gastroenterologische Cytologie	147
Hegemann, F., Münster (Westf.): Zur Cytologie bei der Duodenalsondierung	161
Jeschal, E., Oldenburg: Zur Praecancerocytologie des Magens	165

¹ Demonstration von zwei mikrokinematographischen Filmen. Eine Veröffentlichung des Vortrages konnte aus technischen Gründen nicht erfolgen.

Jeschal, E., Oldenburg: Zum Problem des cytologisch richtig negativen Befundes bei klinisch und röntgenologisch begründetem Carcinom-Verdacht	165
Kosenow, W., Münster (Westf.): Mundepitheldifferenzierung und chromosomale Geschlechtsdiagnose	166
Lambling, A., und Richir, Cl., Paris: Die Cytodiagnostik des Magencarcinoms ..	169
Ruiz Martinez, A., Vigo: Technik zur Entnahme von Zellen aus dem Speiseröhren-Magenabschnitt mittels einer neuen Methode der Zellenabschürfung und Ausspülung	171
Schade, R.O.K., Newcastle upon Tyne: Die Cytologie und Histologie des Frühcarcinoms des Magens	175
Diskussion	180
Grunze, H., Berlin: Cytologie von Bronchien, Lunge und Mediastinum	184
Lopes Cardozo, P., Leiden: Cytologie von Skelett, Mamma, Thyreoidea und Prostata	196
Hartmann, P., Wiesbaden: Bemerkungen zur Bronchialcytologie	205
Heckner, F., Göttingen: Über die Cytodiagnostik des Bronchialcarcinoms	207
Diskussion	207
Sachverzeichnis	211

I. Allgemeine cytologische Fragen

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik Wien
(Direktor: Prof. Dr. K. Fellingner)

Elektronenmikroskopische Befunde an Zellen

Von H. Braunsteiner

Als vor nunmehr 20 Jahren Elektronenmikroskope mit hohem Auflösungsvermögen den Biologen und Medizinern zur Verfügung gestellt wurden, dachte man in einem ersten Aufschwung von Optimismus, daß es nun einfach genügen werde, in diese Instrumente hineinzuschauen und ungeahnte neue Strukturen der lebenden Materie zu entdecken. Tatsächlich ist die Entwicklung jedoch ganz anders gewesen, und wir können heute sagen, daß die Ausbildung der biologischen Untersuchungsmethoden nicht viel weniger schwierig und langwierig war als die Konstruktion des Elektronenmikroskopes selbst.

Diese Schwierigkeiten lagen vor allem im *Prinzip der Elektronenmikroskopie*. Ein Elektronenmikroskop funktioniert im Prinzip wie ein optisches Mikroskop, nur daß an Stelle von Lichtstrahlen und lichtbrechenden Linsen, Elektronenstrahlen bzw. elektromagnetische Linsen zur Anwendung gelangen. Die Elektronen gehen von einer Kathode aus, durchstrahlen das Objekt; das entstehende Bild wird durch ein System von „Linsen“ vergrößert und auf einem Leuchtschirm projiziert. Der Vorteil des Elektronenstrahles besteht dabei darin, daß die Wellenlänge der Elektronen außerordentlich kürzer ist als die des sichtbaren Lichtes. Sie beträgt bei entsprechender Beschleunigung etwa 1 \AA , d.h. den Durchmesser eines Wasserstoffatoms; das Auflösungsvermögen des Elektronenstrahles ist somit fast unbegrenzt. Tatsächlich erreichen die modernsten Elektronenmikroskope unter Ausschaltung aller Störquellen ein Auflösungsvermögen bis zu 10 \AA , für den Routinegebrauch ein Auflösungsvermögen von etwa $20\text{--}30 \text{ \AA}$. Wenn man das auf größenordnungsmäßiger Basis überträgt, so bedeutet es, daß damit nicht nur große und mittelgroße Eiweißmoleküle dargestellt werden können, sondern auch einmolekulare Lagen von Fetten (Cholesterin hat eine Moleküllänge von etwa 40 \AA) sichtbar werden.

Während aber einerseits die außerordentlich kurze Wellenlänge den grundlegenden Vorteil der Elektronenmikroskopie darstellt, so bedeutet sie andererseits auch wieder die entscheidende Schwierigkeit bei der Anwendung in biologischen Bereichen und zwar deshalb, weil den Elektronen mit ihrer kurzen Wellenlänge nur ein sehr geringes Durchdringungsvermögen zukommt. Im Gegensatz zum Lichtstrahl vermögen die Elektronen keine Glasschichten oder Schnitte von Geweben, die mit normalen Mikrotomen angefertigt werden, zu durchdringen. Ihr Durchdringungs-

vermögen ist viel begrenzter und liegt durchschnittlich bei etwa $0,1 \mu$ (d. h. $\frac{1}{10000}$ mm); bei Objekten, die eine komplexe Innenstruktur aufweisen, muß die Schicht noch viel dünner sein. Will man vom Inneren der Zellen ein wirklich brauchbares Bild mit höchstem Auflösungsvermögen erhalten, so darf die Schichtdicke des Objektes nicht mehr als etwa 100–300 Å betragen, also im Prinzip nur aus wenigen, ja selbst unter Umständen nur aus einer Molekularlage bestehen. Gerade diese unvorstellbare, unbedingt erforderliche Feinheit des zu beobachtenden Objektes hat die Anwendung der Elektronenmikroskopie im histologischen Bereich so lange hintangehalten; ja es gab einen Zeitpunkt, wo zahlreiche Cytologen und Histologen, vielleicht nicht ohne ein wenig Schadenfreude, erklärten, daß die Anwendung des Elektronenmikroskops für die Zellforschung auf breiter Basis überhaupt nicht in Frage kommen werde.

Heute sind diese Schwierigkeiten im Prinzip überwunden, wenn auch die Elektronenmikroskopie noch immer keine Routinemethode der cytologischen Untersuchung geworden ist und wahrscheinlich auch nie werden wird.

Das hat folgenden Grund: Die Technik der *Herstellung von Gewebsschnitten* für das Elektronenmikroskop ist sehr schwierig. Der erste wesentliche Faktor ist eine entsprechende schonende Fixierung. Man hat ja der Elektronenmikroskopie vorgeworfen, daß sie vielfach mit Artefakten arbeite. Gerade das Gegenteil ist zutreffend. Gerade die gebräuchlichen Fixiermethoden führen zu so weitgehenden Veränderungen in der submikroskopischen Struktur der Zellen, daß sie elektronenmikroskopisch ganz unverwertbar sind. Man sieht dort nur grobe Verklumpungen, Vernetzungen, Niederschläge usw. Die Vorbedingung einer guten Fixierung ist der unmittelbare Eintritt *in vivo*, am lebendigen Präparat. Man legt am besten das Organ frei, bringt das Fixiermittel unmittelbar auf und entnimmt kleinste Stücke von der Oberfläche. Nur die obersten 50μ geben in der Regel befriedigende Bilder. Wo dies nicht möglich ist, etwa bei der Untersuchung des Knochenmarkes durch Punktion, wird man es unmittelbar nach Gewinnung in das Fixierungsmittel einbringen. Schon wenige Minuten genügen, um an unfixierten Zellen schwere autolytische Veränderungen im submikroskopischen Bereich hervorzurufen. Zu solchen Veränderungen kommt es auch unweigerlich in der Tiefe des Präparates. Man ermißt daraus die Schwierigkeit in der Beurteilung pathologischer Bilder, etwa geschädigter Zellen, an der gerade die Medizin so interessiert wäre.

Als *Fixiermittel* hat sich heute allgemein die Osmiumsäure bewährt. Man verwendet dabei eine Osmiumsäure in 1% iger Lösung, die nicht mit den bekannten Osmiumfixierungen in der normalen Histologie gleichzusetzen ist. Bei dieser Fixierung kommt es nach nicht genau festgestelltem Weg zu einer Erstarrung der Eiweiß- und Fettstrukturen, ohne daß sich die Verhältnisse gegenüber der Lebendstruktur wesentlich verändern. Dies geht aus sehr vielen Parallelversuchen mit Polarisationsmethoden, Röntgenstrahlendiffraktion usw. hervor. Die Fixierungsdauer beträgt etwa 1–3 Stunden. Der 1% igen Osmiumsäure werden dabei Puffer zugesetzt, die ein ständiges p_H von 7,3 aufrecht erhalten. Die Lösung wird weiterhin isoton gehalten. Nach der Fixierung mit Osmiumsäure werden die Gewebstücke gründlich in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, in steigenden Alkoholreihen dehydriert und gelangen schließlich in das eigentliche Einbettungsmittel, in Methakrylat. Bis die Präparate vollkommen mit Methakrylat imbibiert sind, wird ein Katalysator hinzugefügt, unter dessen Einwirkung sich das Methakrylat langsam polymerisiert und verfestigt, bis es schließlich zu Plexiglas wird. Nach Einbettung in Plexiglas wird das Präparat geschnitten; die Schwierigkeit besteht dabei darin, einerseits ein geeignetes Messer zu finden, das so feine Schnitte herzustellen vermag, andererseits einen regelmäßigen Transport des Objektes nach jedem Schnitt um etwa 100 \AA herzustellen. Als Messer wird von einem Teil der Laboratorien, vor allem in Amerika, Glasbruch verwendet, wir selbst verwenden feinste schwedische Rasierklingen, die in einem weiteren Verfahren noch außerordentlich geschärft werden. Unser Mikrotom ist nach einer Angabe von Sjöstrand von den LKB-Werken in Stockholm konstruiert. Der Transport des Objektes erfolgt, indem ein im Inneren befindlicher Stahlstab

elektrisch erhitzt wird, wodurch es zu einem langsamen Vorrücken des Präparates, und zwar in der Sekunde um 70–100 Å, kommt. Gleichzeitig rotiert das Präparat in der Sekunde an der Klinge vorbei, so daß Serienschnitte entstehen. Man läßt das Mikrotom 5–10 Minuten in Tätigkeit, die Schnitte, in der Regel 300–500, breiten sich auf der Wasseroberfläche hinter dem Messer aus und werden dann auf dünnste Kunststoffmembranen aufgefangen. Das Prinzip, mit dem diese Schnitte ausgeführt werden, klingt einfach, tatsächlich sind jedoch eine Reihe von Kriterien, ebenso wie bei der Fixierung streng zu berücksichtigen, und nur nach langer Übung gelingt es, entsprechend dünne, einwandfreie Schnitte herzustellen.

Auf der folgenden Abbildung sehen Sie nun einen Überblick über einen solchen Schnitt, es handelt sich hier um Lymphocyten (Abb. 1) und Sie erkennen, daß sich prinzipiell das Bild von dem eines normalen Schnittes, etwa im Phasenkontrastmikroskop betrachtet, nicht wesentlich unterscheidet. Geht man nun jedoch in feinere Details ein, dann zeigt sich die ungeheure Überlegenheit der Elektronenmikroskopie in der Auflösung der Einzelheiten, was ich an einzelnen Beispielen belegen möchte.

Zunächst möchte ich kurz die *Mitochondrien* besprechen, die, wie Sie wissen, in jeder Zelle enthalten sind, und teils als runde Körper, teils als längliche Stäbe angenommen werden können. Im nunmehr folgenden Bild gebe ich Ihnen die elektronenmikroskopische Ansicht eines feinsten Schnittes durch die Mitochondrien wieder. Sie sehen, daß jedes einzelne

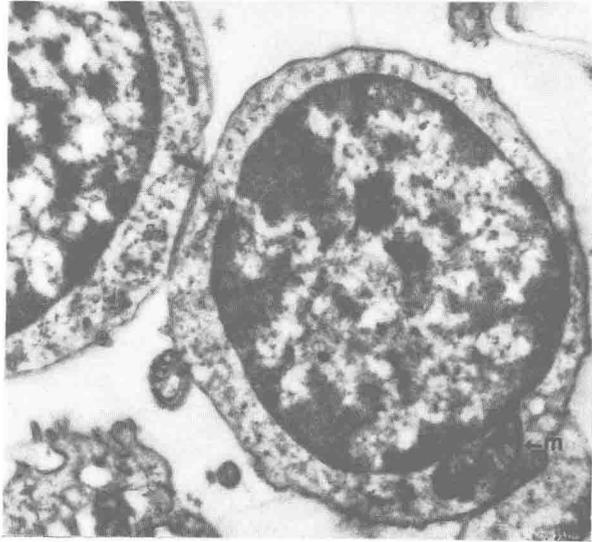


Abb. 1. Lymphocyten. Die Mitochondrien zeigen die charakteristische Innenstruktur. Zahlreiche feine Kerngranula gegen die doppelkonturierte Kernmembran zu.

Mitochondrium eine außerordentlich komplizierte und regelmäßige Innenstruktur aufweist. Es ist außen von einer doppelkonturierten Membran umgeben und im Inneren durch ein System von senkrecht angeordneten Membranen, die gleichfalls eine Doppelstruktur aufweisen, abgeteilt. Die Dimension dieser Membranen liegt bereits im molekularen Bereich. Die äußeren dunklen Schichten haben eine Dicke von rund 40 Å, der helle Raum, der sie voneinander trennt, hat eine Weite von rund 70 Å. Sie müssen nun bedenken, daß 40 Å etwa dem Durchmesser eines kleinen sphärischen Proteinmoleküls entsprechen, während 70 Å einer doppelten Lage von Lipoiden gleichkommen.

Der Aufbau der Membranen ist nun von größter biologischer Bedeutung. Durch Untersuchung an durch Ultrazentrifugierung isolierten Mitochondrien wissen wir, daß dieselben eine große Anzahl von Fermenten in hoher Konzentration enthalten. Viele, vor allem oxydative Zellfermente, sind überhaupt nur in den Mitochondrien

zu finden. Das oxydative Potential der Mitochondrien wird unter anderem benötigt, um die Adenosindiphosphorsäure zu Adenosinphosphorsäure, die bekanntlich eine tragende Rolle als Energieüberträger spielt, zu phosphorylieren. Die Mitochondrien sind deshalb als die Energiespender, gewissermaßen die Kraftzentralen der Zellen, bezeichnet worden. Die Mitochondrien können jedoch ihre enzymatische Tätigkeit nur ausüben, solange ihre Struktur erhalten ist, viele der in ihnen enthaltenen Fermente sind einerseits wasserunlöslich, andererseits strukturgebunden. Wahrscheinlich sind diese Fermente in bestimmten Reihenfolgen an der Oberfläche der Mitochondrien-Membranen lokalisiert und ein normaler Ablauf der Reaktion ist nur bei vollkommen intakter submikroskopischer Organisation möglich. Mit verhältnismäßig

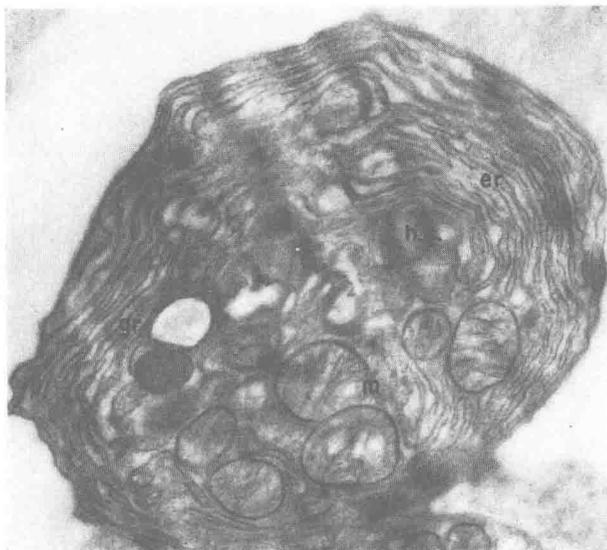


Abb. 2. Plasmazelle, deren Cytoplasma gänzlich durch das Ergastoplasma ausgefüllt ist. Der Schnitt geht am Kern vorbei.

wenigen Enzymmolekülen können ganze Serien von Reaktionen ohne Verlust von Energie ablaufen. Die Biochemiker mußten auf Grund ihrer Ergebnisse vermuten, daß nur eine hochorganisierte Struktur in den Mitochondrien einen solchen Ablauf gewährleisten kann. Hier ist zum ersten Male ein solches Modell gegeben; gerade in den Mitochondrien sind wir an der Schwelle der Synthese von Struktur und chemische Reaktion angelangt. Zwischen den Mitochondrien verschiedener Organe, etwa Leber und Niere, bestehen bedeutende Unterschiede.

Der cytologischen und insbesondere pathologischen Auswertung der Untersuchungen an den Mitochondrien stehen allerdings bedeutende Schwierigkeiten entgegen. Wie schon angeführt, können durch kleine, im normalen Mikroskop gar nicht sichtbare Schädigungen der Zelle, wie kurze, oft nur wenige Sekunden dauernde Anoxaemie, Quetschung, Fehlern bei der Fixierung und Einbettung, so starke Veränderungen hervorgerufen werden, daß man in der Interpretation eines pathologischen Ergebnisses außerordentlich vorsichtig sein muß und nur an Hand von vielen Untersuchungen eine spezifische pathologische Veränderung feststellen kann. So scheint es in den Mitochondrien bei einer Reihe von Zuständen, die in der Pathologie als trübe Schwellung bezeichnet werden, weiters bei längerem Fasten, zu einer Quellung der Mitochondrien zu kommen. Bei der Aufnahme von Eiweiß aus den Tubuli kommt es zu einer Umwandlung der Mitochondrien in eigenartige granuläre Gebilde, und in der Nebenniere können sich die Mitochondrien in Lipoidtröpfchen umwandeln.

Nach den Mitochondrien möchte ich auf einen weiteren Bestandteil des Cytoplasma eingehen, der in wenigen Jahren große Bedeutung gewonnen hat und mit dem wir uns eingehend befaßt haben. Es handelt sich um das sogenannte *Ergastoplasma* oder die kanalikuläre Cytoplasmastruktur. Diese Struktur wurde erstmalig in Leberzellen und Pankreaszellen gesehen. Es handelte sich um Filamente, die, nachdem sie in ribonucleoproteinreichen Zellen gefunden wurden, als morphologisches Substrat der Ribonucleoproteine aufgefaßt wurden. Mittlerweile konnte jedoch gezeigt werden, (wie Sie auf den folgenden Abbildungen sehen, es handelt sich hier um eine Plasmazelle, Abb. 2), daß es sich nicht um Filamente, sondern um ein System von doppelten Membranen handelt. Jede dieser Membranen ist wieder ungefähr 40–50 Å dick. Der Abstand zwischen den beiden Membranen ist diesmal jedoch weiter und beträgt 200–800 Å. An diese Membranen sind einseitig dichte, rundliche Partikel von etwa 120–150 Å angelagert. Dieses System von Membranen umgibt konzentrisch den Kern und die einzelnen Zellorganzellen. Es kann das Cytoplasma vollkommen ausfüllen.

Wir konnten nunmehr zeigen, daß diese Struktur keinesfalls nur vom Gehalt an Ribonucleoproteinen in den Zellen abhängig ist. Viele ribonucleoproteinreiche Zellen, wie etwa junge Blutzellen, leukämische Zellen, Tumorzellen usw. weisen keine solchen Membranen auf. Hingegen konnten wir eine entsprechende Struktur nicht nur in Leberzellen und Pankreaszellen, sondern auch in besonders reichem Maße, wie die Abbildung zeigt, in Plasmazellen des Knochenmarkes und der Lymphknoten, in Follikel epithelzellen der Schilddrüse, in den sezernierenden Zellen der Brustdrüse, in Zellen der Prostata, der Samenblase und den juxtaglomerulären Zellen der Niere feststellen. Wir kamen deshalb zum Ergebnis, daß diese Struktur nicht Ribonucleoproteine an sich, sondern einen ribonucleoproteinreichen Apparat zur Synthese und Sekretion von spezifischen Proteinen, im vorliegenden Fall also von Globulinen, darstellt.

Diese Hypothese wurde voll bestätigt, nachdem in der Folgezeit ein ausgeprägtes Ergastoplasma nur in Protein sezernierenden Zellen gefunden wurde, wie zum Beispiel in gewissen *Zellen des Hypophysenvorderlappens* und in *pepsinproduzierenden Zellen des Magens*. Darüber hinaus gelang es uns, diesen Mechanismus der Synthese und Sekretion in allen Abläufen zu verfolgen. Immunisiert man Kaninchen mit abgetöteten Typhuskeimen, so kommt es mit dem Ansteigen des Antikörpertiters zu einer außerordentlichen Vermehrung der Plasmazellen mit entsprechendem Ergastoplasma. Stimuliert man die *Schilddrüse* mit thyreotropem Hormon, so kommt es gleichfalls als Ausdruck der vermehrten Synthese von Thyreoglobulin zu einer mächtigen Vermehrung des Ergastoplasmas. Hypophysektomiert man hingegen solche Tiere, so daß es zu einer Einstellung der Proteinhormonsynthese kommt, so verschwindet das Ergastoplasma weitgehend.

Die gleichen Vorgänge lassen sich auch in der Prostata verfolgen. Die normale *Prostatazelle* eines geschlechtsreifen Tieres zeigt ein voll ausgeprägtes Ergastoplasma. Die folgende Abbildung zeigt den Rand einer solchen Zelle gegen das Drüsenlumen zu. Sie sehen, wie sich das Ergastoplasma unmittelbar in Sekrettröpfchen umwandelt und wie diese Sekrettröpfchen ausgestoßen werden. Die folgende Abbildung hingegen zeigt eine entsprechende Zelle bei einem kastrierten Tier. Es ist zu einem fast vollständigen Verschwinden des Ergastoplasmas gekommen, auch findet keine

Sekretion mehr statt. Gibt man den Tieren Geschlechtshormon, so kommt es wieder zu einer normalen Ausbildung des Ergastoplasma.

Außerordentlich interessant ist die Ausbildung des Ergastoplasmas in den *Plasmazellen*. Es kann damit erstmalig mit Sicherheit geschlossen werden, daß den Plasmazellen, und nur diesen, die Sekretion von bestimmten Plasmaproteinen möglich ist. Lymphocyten zeigen keine ähnliche Struktur. Ein besonders ausgeprägtes Ergastoplasma oft in Verbindung mit stark hypertrophierten Mitochondrien sieht man bei *Plasmocytomen*. Auch hier kann die Sekretion verfolgt werden. Es wird dadurch möglich, Plasmazellen mit absoluter Sicherheit zu erkennen und isolierte Plasmocytome klinisch zu diagnostizieren. Die Plasmazellen bilden ein durch den ganzen Körper gehendes streng spezifisches Organ mit genau definierter Aufgabe. Auf Grund dieser Beobachtung können wir auch eindeutig feststellen, daß die sogenannten Blutplasmazellen oder auch die sogenannten lymphatischen Plasmazellen nichts mit

echten Plasmazellen zu tun haben. Sie dürften lymphatische Reizformen darstellen, ebenso wie die Drüsenfieberzellen.

Bei den Plasmazellen ist es auch möglich, die Entwicklung des Ergastoplasmas in den Zellen ausgehend von undifferenzierten Reticulumzellen schrittweise zu beobachten. Hier sehen Sie den Beginn der Ergastoplasmaabildung bei Immunisierung (Abb. 3).

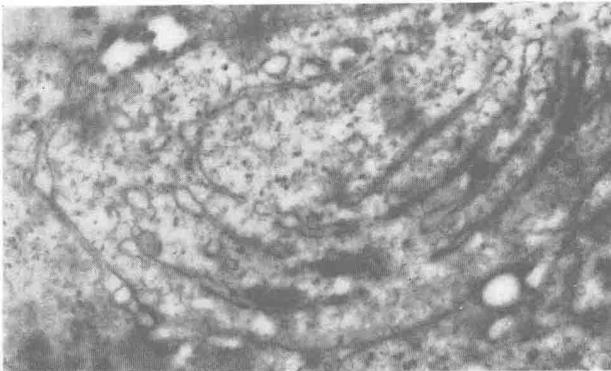


Abb. 3. Ergastoplasma in Bildung. Die Cytoplasmagrana sammeln sich an der Oberfläche der ergastoplasmischen Säcke.

Einen höchst interessanten klinischen Fall konnten wir kürzlich beobachten, wo es zu einem gerade umgekehrten Vorgang kam. Es bestand ein Plasmocytom von stark retikulärem Zelltyp, jedoch mit ausgeprägter γ -Paraproteinämie. Im Verlaufe der Erkrankung begannen plötzlich die Eiweißwerte im Serum abzusinken, das Paraprotein verschwand, und dementsprechend kam es auch immer mehr zum Verschwinden des Ergastoplasmas (Abb. 4). In den lymphoretikulären Zellen bei der Waldenströmschen Erkrankung läßt sich gleichfalls ein sehr deutliches Ergastoplasma nachweisen, wodurch die Eiweißsekretion dieser Zellen belegt scheint (Abb. 5). Ebenso macht die Anwesenheit eines Ergastoplasmas in den juxtaglomerulären Zellen der Niere deren sekretorische Funktion wahrscheinlich.

Interessant ist das Verhalten des Ergastoplasmas bei *Tumorzellen*. Wir haben hier hauptsächlich Schilddrüsen- und Prostata Tumoren beim Menschen untersucht. Nur dort, wo die Fähigkeit zur Bildung und Sekretion spezifischer Proteine bestehen bleibt, wie z. B. bei jodspeichernden, sezernierenden Schilddrüsentumoren, knochenbildenden Osteosarkomen, Adenomen der Prostata bzw. aktiven Schilddrüsenadenomen, bleibt das Ergastoplasma in wechselndem Ausmaße, wie Sie auf den Abbildungen sehen, dem Funktionszustand der Zelle entsprechend erhalten (Abb. 6). Je

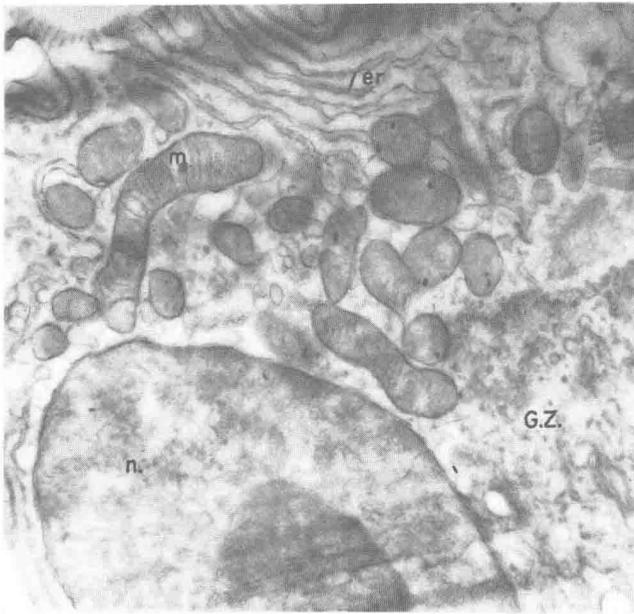


Abb. 4. Retikuläres Plasmocytom mit geringer Hyperglobulinämie. Ergastoplasma relativ spärlich ausgebildet (vgl. Abb. 2). Rechts Golgi-Zone. Zahlreiche Mitochondrien, doppelt-konturierte Kernmembrane.

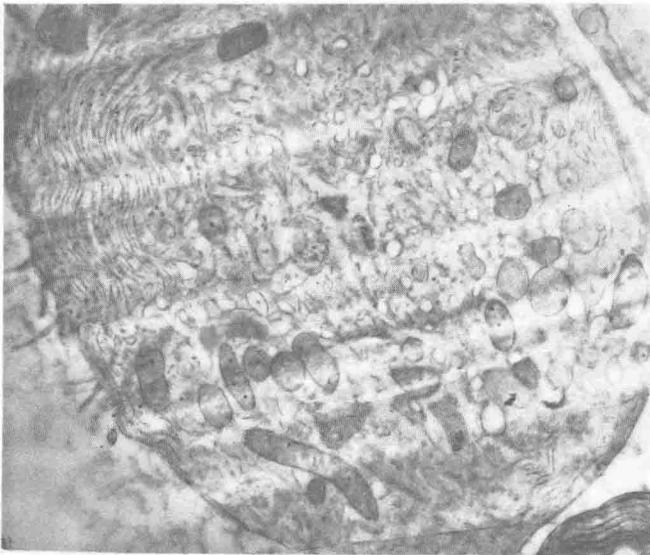


Abb. 5. Lymphoretikuläre Zelle bei Makroglobulinämie mit Ergastoplasma. In der Mitte Golgizone. Mitochondrienstruktur mit Lipoidgranula in den Mitochondrien. Der Schnitt geht am Kern vorbei.

mehr sich die Tumorzellen entdifferenzieren, desto mehr tritt das Ergastoplasma zurück und verschwindet schließlich vollkommen (Abb. 7). Vielleicht kann dies klinische Bedeutung zur Abschätzung des Malignitätsgrades solcher Zellen gewinnen.

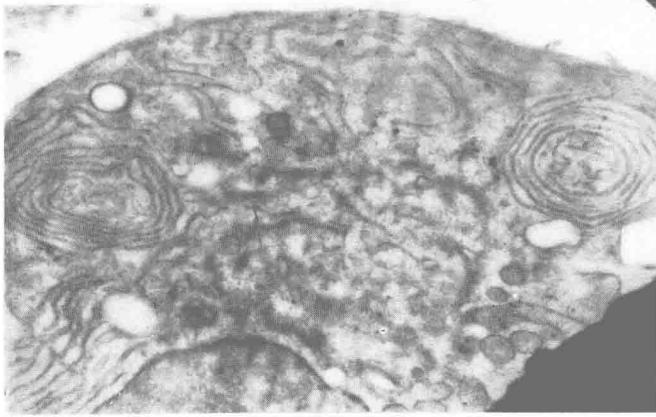


Abb. 6. Zelle einer jodspeichernden Metastase eines Schilddrüsenkarzinoms. Deutliches Ergastoplasma.

Bei thyreotoxischen Krisen andererseits ist das Ergastoplasma in voller Umwandlung in Sekrettröpfchen ausgebildet (Abb. 8), wie wir es im Tierversuch nur nach höchsten Dosen von thyreotropen Hormon gesehen haben.

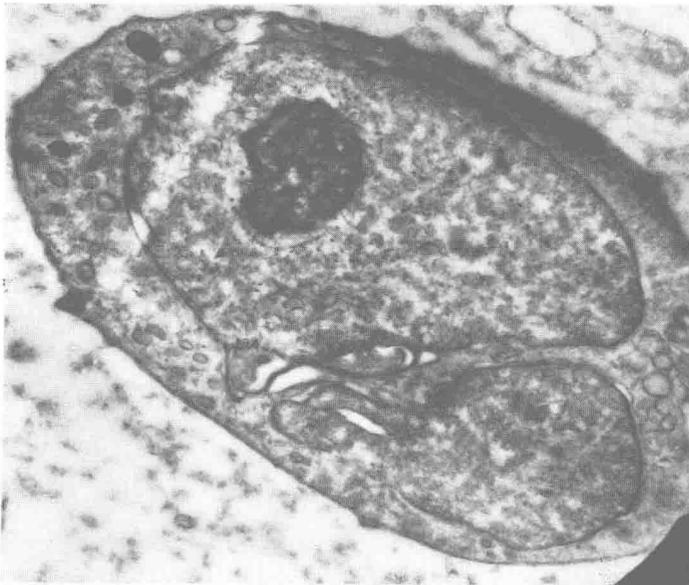


Abb. 7. Zelle einer Metastase eines entdifferenzierten (vorher mehrmals bestrahlten) Schilddrüsenkarzinoms. Riesiger, strukturierter Nucleolus.

Wie aus der Feinstruktur dieser Zellen nochmals ersichtlich, besteht das Ergastoplasma einerseits aus konzentrisch angeordneten Membransystemen, in denen anscheinend das Sekretionsprodukt aufgefangen wird, andererseits aus feinsten Granula von etwa 120–150 Å Durchmesser. Durch Ultrazentrifugierungsversuch mit Isolierung dieser Granula und chemischer Identifizierung kann geschlossen werden, daß es sich bei diesen Granula um Ribonucleoproteinmoleküle bzw. um Komplexe von einigen solcher Moleküle handelt. Es ist bekannt, daß diese Ribonucleoproteine eine außerordentlich wichtige Rolle bei der Eiweißsynthese spielen.

Zellen, die sehr reich an Ribonucleoproteinen sind, also im wesentlichen stark basophile junge Zellen, jedoch keine eiweißsekretorische Funktion ausüben, besitzen *Granula* von gleicher Dimension, die dann jedoch diffus verteilt sind. Dies sieht man sehr gut an Schnitten von Zellen bei malignem Lymphogranulom, sogenannten Paltauf-Sternbergschen Riesenzellen und anderen rasch wachsenden Tumorzellen. Besonders gut lassen sich diese Verhältnisse jedoch bei der Entwicklung der roten Blutzellen verfolgen. Der Proerythroblast hat eine ausgeprägte Durchsetzung des Protoplasmas mit solchen Ribonucleoproteinpartikel (Abb. 9). Schwindet die Basophilie und wird Hämoglobin eingelagert, so kommt es auch zu einem Schwund dieser Partikel, bis schließlich der Kern ausgestoßen wird und der normale Erythrocyt entsteht.

Diese Granula finden sich jedoch nicht nur im Cytoplasma, Granula ähnlicher Dimension finden sich im *Nucleolus*, sowie auch diffus im Kern zerstreut, besonders aber gegen seinen äußeren Rand zu, wo sie unmittelbar an die Kernmembran stoßen. Diese *Kernmembran* ist doppelt konturiert. Diese Kerngranula verdichten sich gegen die Oberfläche zu, wenn es zur Mitose kommt. Die einzelnen Chromosomen sind dann in der Hauptsache aus solchen Granula zusammengesetzt, die stellenweise fadenförmig aneinandergereiht erscheinen.

An Grundstrukturen der Zelle ist schließlich noch der *Golgi-Apparat* zu erwähnen, über den so viel in der normalen Histologie gearbeitet wurde. Im Elektronenmikroskop erweist er sich als ein System von freien Vacuolen und Membranen. Seine Bedeutung ist noch ungeklärt, doch ist es sicher, daß er an der Elaboration gewisser Zellprodukte, wie z. B. an der Bildung der Granula in den Leucocyten teilnimmt.

Zum Abschluß noch ein Wort über ein Gebiet, das begrifflicherweise alle Elektronenmikroskopiker besonders beschäftigt, das Problem der *Krebszellen*. Die Elektronenmikroskopie hat bisher leider kein Kriterium für die Malignität einer Zelle entdecken können. Der Nachweis eines Virus ist bisher nur in solchen Zellen gelungen, wo bereits auf indirektem Wege ein Anhaltspunkt für das Vorliegen einer Virus-

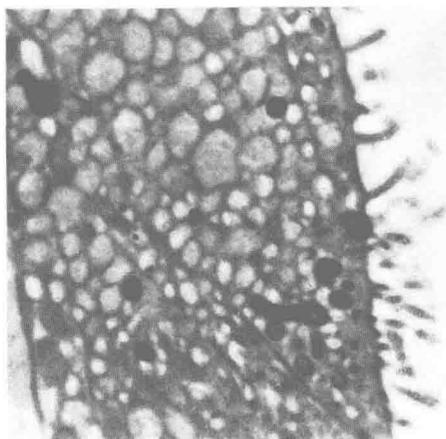


Abb. 8. Schilddrüse bei Thyreotoxikose. Das Ergastoplasma ist durch Sekrettröpfchen auseinandergedrängt. Fingerartige Zellausstülpungen reichen in das Follikellumen.