

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
(Direktor: Prof. Dr. E. KIRCH)

Die alkalische Phosphatase in den Hiluszellen des Ovars

Von

GEORG DHOM und HANS-JOACHIM MENDE

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. August 1955)

Die sog. Hiluszellen (Hz.) des menschlichen Ovars haben in jüngster Zeit das Interesse speziell der endokrinologischen Forschung erregt. Obwohl vorwiegend durch die Arbeiten von BERGER schon seit 1923 bekannt, waren es erst die Mitteilungen über vermännlichende Hz.-Geschwülste, die die Frage nach der Funktion der Hz. von allgemeiner Bedeutung erscheinen ließ. Morphologisch waren die Hz. in überzeugender Weise schon von BERGER den Zwischenzellen des Hodens an die Seite gestellt worden und so schien es naheliegend, Vergleichsuntersuchungen auf breiter Basis anzustellen, und zwar insbesondere in quantitativer und histochemischer Hinsicht.

In einer früheren Mitteilung hat der eine von uns (DHOM) an 130 Ovarienpaaren aller Altersstufen gezeigt, daß tatsächlich weitgehende Parallelen bestehen. Beide Zellgruppen sind Vines-positiv und enthalten bei der Reaktion nach ASHBEL und SELIGMAN sog. Carbonsäurelipide (BACHMANN). In entsprechender Weise ist auch die Plasmareaktion positiv. Schließlich konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß die Hz. ebenso wie die Zwischenzellen des Hodens vom Hypophysenvorderlappen beeinflußt werden, was neuerdings STANGE bestätigen konnte. Quantitativ ließ sich zeigen, daß die Hz. in Klimakterium und Menopause an Menge zunehmen, und nicht „verschwinden“, wie vielfach irrtümlich angenommen wurde. Die morphologischen Befunde wurden zusammen mit dem klinischen Bild der Hz.-Geschwülste dahingehend gedeutet, daß auch die Hz. Steroidbildner sind und vermutlich androgene Substanzen liefern.

Es schien jedoch *notwendig, weitere Einblicke in die funktionelle Leistung der Hz. zu erlangen*. Hierzu ist besonders die Prüfung des Fermentgehaltes, speziell der Phosphatasen, von Bedeutung. OBER konnte bereits in 2 Fällen zeigen, daß die Hz. alkalische Phosphatase (Ph.) enthalten. Unser Anliegen war es, die Ph.-Aktivität in den Hz. auf breiterer Grundlage zu studieren.

Material und Methodik

Zur Untersuchung kamen die Ovarien von 33 Fällen unseres laufenden Sektionsmaterials (bis auf 2 Fälle jeweils Ovarienpaare), mit einer Altersverteilung

zwischen 15 und 95 Jahren, und ohne Rücksicht auf die zwischen Tod und Sektion verstrichene Zeit. Die Ovarien wurden bis auf eine schmale Kalotte vom Hilus abgetrennt und dieser in 3 Blöcken verarbeitet. Der Nachweis der alkalischen Ph.) wurde an in Paraffin eingebettetem Material vorgenommen. Dies war notwendig, da ja in jedem Fall erst durch eine größere Schnittreihe der Nachweis von Hz. erbracht werden mußte, bevor man daran gehen konnte, die Ph.-Aktivität zu prüfen. Mit der Einbettung verbundene Aktivitätsverluste mußten also in Kauf genommen werden. Nach Vorkühlung bei -4° wurde nach GOMORI 24 Std in 80%igem Äthylalkohol bei -1° fixiert. Die Dehydratation wurde weitere 24 Std in absolutem Alkohol und in Methylbenzoat (EGER und GELLER) vorgenommen. Für die Inkubation in der GOMORISCHEN Lösung bei 37° wurden 5 Std als die optimale Zeit erkannt. Die späte Fixierung des Sektionsmaterials (durchschnittlich 20 Std p. m.) und die dadurch bedingten Aktivitätsverluste ließen eine kürzere Inkubationsdauer als unzweckmäßig erscheinen. Dabei ließ sich feststellen, daß bei der Zeitspanne von mehr als 20 Std zwischen Tod und Entnahme des Materials regelmäßig eine verschieden starke Diffusion auftrat, während bei einer kürzeren Zeitspanne eine Diffusion nur vereinzelt zu beobachten war. Die Calciumkonzentration wurde sehr hoch gewählt, da GOMORI u. a. festgestellt haben, daß Zellkernanfärbungen und Diffusionsartefakte dadurch vermieden werden können.

In jedem Fall wurden folgende *Kontrolluntersuchungen* durchgeführt:

1. Hemmung des Fermentes durch LUGOLSche Lösung 10 min,
2. Inkubation ohne Substrat (Natriumglycerophosphat),
3. keine Inkubation, sondern nur Darstellung mit Kobaltnitrat und Ammoniumsulfid.

Von den etwa 100 Stufenschnitten jedes Falles wurde jeder 3. zunächst mit H.-E. gefärbt. Ließen sich Hz.-Komplexe nachweisen, so wurden die benachbarten Schnitte inkubiert bzw. zu Kontrollen verwandt. Damit war es möglich, in den meisten Fällen die gleichen Komplexe mit und ohne Inkubation zu studieren.

Ergebnisse

Die allgemeine Morphologie der Hz. wurde in einer früheren Mitteilung des einen von uns (DHOM) ausführlich dargelegt. Es handelt sich um meist para- oder perinervöse Zellkomplexe im Hilus des menschlichen Ovars, wobei die Einzelelemente durch ihr epitheloides Aussehen, durch ihren Lipoidgehalt und durch die in etwa 5% der Fälle nachzuweisenden REINKESchen Kristalle durchaus den Zwischenzellen des Hodens an die Seite zu stellen sind.

Bei den untersuchten 33 Fällen konnten in 28 Fällen Hz. nachgewiesen werden, was sich mit dem früher von uns und anderen (STERNBERG) gefundenen Prozentsatz von 80—85% deckt. Dabei ergibt sich folgende Altersverteilung:

- 14—45 Jahre (Geschlechtsreife) 10 Fälle: 8 Hz.-positiv.
 45—60 Jahre (Klimakterium und frühe Menopause) 11 Fälle:
 10 Hz.-positiv.

Über 60 Jahre (Menopause) 12 Fälle: 10 Hz.-positiv.

Bei allen 28 Fällen mit positivem Hz.-Befund war alkalische Ph. in den Hz. nachzuweisen. Die Hz.-Komplexe heben sich dabei mehr oder

weniger scharf als dunkle bis schwärzliche Herde aus dem Hilusbindegewebe heraus, das Ph.-negativ ist (Abb. 1 und 2). Die größeren Komplexe sind dabei unter Umständen schon mit freiem Auge im Schnittpräparat wahrzunehmen. Neben den Hz. sind lediglich noch die Capillarendothelien im Ovarialhilus regelmäßig Ph.-haltig (Abb. 2). Diese bekannte Eigenschaft der Endothelien war jeweils ein guter Indicator

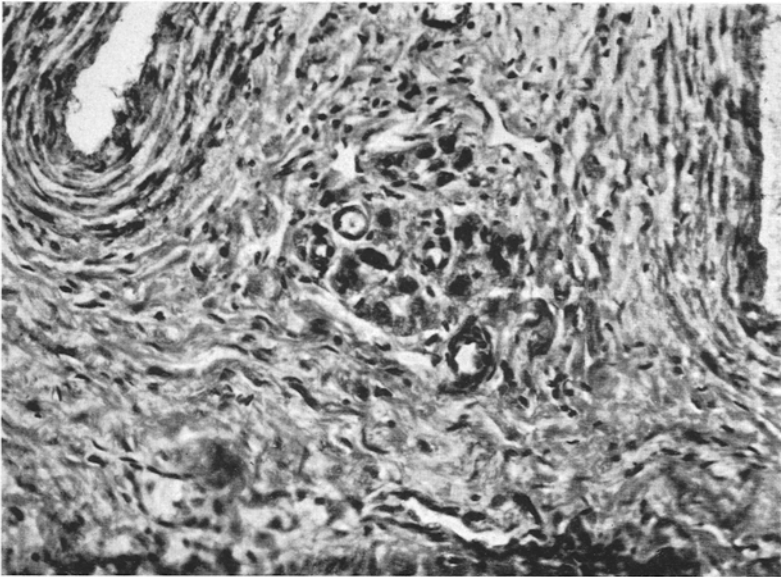


Abb. 1. 15jähriges Mädchen, kleines Hiluszellnest zwischen 2 Arterien. H.-E.-Färbung

für den Ausfall der Reaktion und für die einzelnen Kontrolluntersuchungen.

Die *Stärke der Fermentwirkung* war in den einzelnen Fällen sehr unterschiedlich. Wir stellten daher eine Intensitätsskala auf, um gewisse Anhaltspunkte und Vergleichsmöglichkeiten zu gewinnen. Die Gradeinteilung beruht natürlich auf einer weitgehend subjektiven Schätzung und schließt Fehldeutungen nicht sicher aus. Folgende Einteilung wurde getroffen: I = stärkste Wirksamkeit: totale Schwärzung der ganzen Zelle ohne erkennbare Strukturen. II = starke Wirksamkeit: Schwärzung der ganzen Zelle mit erkennbaren Strukturen. III = schwache Wirksamkeit: Schwärzung allein des Cytoplasmas. IV = schwächste Wirksamkeit: bräunlich-schmutzige Schummerung des Cytoplasmas. Die Größenangaben der Hz.-Komplexe wurden nach der von uns früher vorgenommenen Einteilung durchgeführt.

Aus einer tabellarischen Übersicht, die von Verff. erbeten werden kann, geht zunächst hervor, daß die unterschiedlichen Aktivitätsstufen

in keiner gesetzmäßigen Relation zu den anderen in der Tabelle aufgeführten Faktoren zu stehen scheinen. Vor allem der verschiedenen große Zeitfaktor erschwert eine exakte Deutung. Mit zunehmendem Zeitfaktor wird die Aktivität schwächer. Bei diesen Fällen ist also in Rechnung zu stellen, daß ursprünglich die Fermentaktivität stärker war. Andererseits beweisen die Fälle mit relativ kurzem Zeitfaktor (im gün-

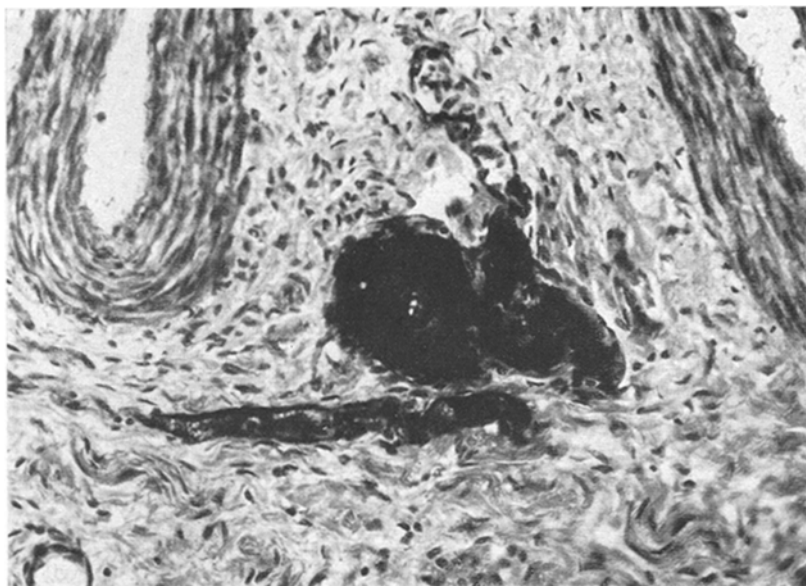


Abb. 2. Das gleiche Hiluszellnest bei Phosphatasereaktion. Wirksamkeitsgrad I. Beachte die gleichzeitig starke Reaktion in der benachbarten Capillare

stigsten Fall 6 Std) und gleichzeitig schwacher Aktivität, daß unabhängig von den günstigen Versuchsbedingungen Hz-Komplexe vorkommen, deren Fermentwirkung eine sehr geringe ist. Hier kann einmal das Ferment tatsächlich nur in geringer Menge vorhanden sein, oder es ist in vorwiegend inaktiver Form in der Zelle verankert oder es wird durch noch unbekannte cytoplasmatische Substanzen in seiner Tätigkeit gehemmt.

Im Gegensatz zu diesen Befunden beobachteten wir ferner Hz.-Komplexe, die selbst bei einem Zeitfaktor von 25—28 Std. noch einen Wirkungsgrad I aufwiesen. Auffallend ist hier, daß die Schwärzung der Capillarendothelien, die wir regelmäßig neben den Hz. als Ph.-haltig beobachteten, im Vergleich zu anderen Fällen keine Zunahme der Intensität zeigt. Die starke Aktivität ist hier also auf die Hz. beschränkt. Differenzen in der Fermentaktivität lassen sich auch innerhalb ein- und desselben Falles nachweisen. Die geschätzten Wirksamkeitsgrade geben

jeweils nur die höchste Stufe an. Derartige Aktivitätsschwankungen innerhalb eines Falles sind jedoch nicht die Regel, es gibt durchaus auch Fälle, bei denen alle Hz.-Komplexe die gleiche Aktivität aufweisen. Ein differenziertes Verhalten zeigen vor allem die stark aktiven Komplexe. Bei größeren Hz.-Feldern ist die Verteilung meist so, daß die stark positiven Zellen randständig lagern, während die zentral gelegenen Partien schwächere Aktivität zeigen. Beziehungen zu den

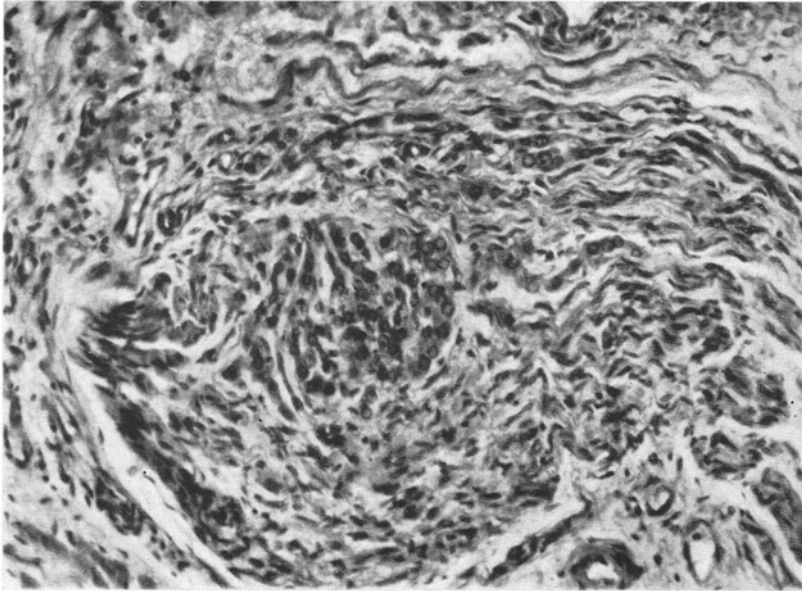


Abb. 3. Fall 25. Intraneurale Hiluszellen. H.-E.-Färbung

dazwischengelegenen Capillaren konnten wir dabei nicht feststellen. Intraneurale Hz. sind meist stark positiv (Abb. 3 und 4).

Schlüsseln wir unser Material nach *Altersstufen* auf, so ergibt sich für die Altersgruppe von 15—45 Jahren, daß besonders die jugendlichen Fälle von 15—25 Jahren eine starke Aktivität aufweisen. Ein 15jähriges Mädchen (Fall 17), bei dem der Zeitfaktor 28 Std beträgt, zeigt noch einen Wirkungsgrad I (Abb. 2). Die Größe der Komplexe spielt dabei keine Rolle, handelt es sich doch nach früher von uns gemachten Erfahrungen in diesem Lebensalter um überwiegend kleine Komplexe. Die letzten 3 Fälle dieser Gruppe mit geringem Aktivitätsgrad stehen schon an der Grenze zur Altersgruppe 2, hier ist auch der Zeitfaktor teilweise besonders lang (bis 36 Std).

In der Gruppe von 45—60 Jahren überwiegen die Wirksamkeitsgrade I, II, II—III. Auch hier ergibt sich jedoch keine Beziehung zur

Größe der Hz.-Komplexe. Wenn wir einen Fall mit einem Zeitfaktor von 47 Std außer Betracht lassen, weisen von den 9 Fällen 7 eine starke oder stärkere und nur 2 Fälle eine schwache Ph.-Aktivität auf.

Die Beurteilung der 10 Fälle der Altersgruppe über 60 Jahre ist durch die hier besonders ungünstigen Zeitfaktoren erschwert. Nur drei haben einen Zeitfaktor unter 20 Std. Die Fermentaktivität dürfte in einem Teil der Fälle also höher zu veranschlagen sein. Es ist jedoch

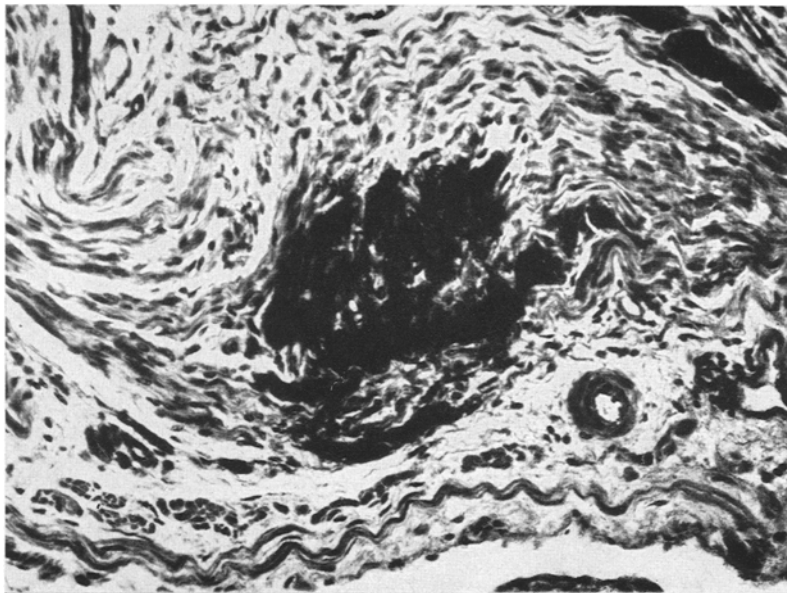


Abb. 4. Phosphataseaktivität im gleichen Hiluszellkomplex

bemerkenswert, daß auch noch im höchsten Alter — in einem Falle bei 95 Jahren — eine deutliche Fermentaktivität festzustellen ist. Wir können also in der Menopause *mit steigendem Alter weder eine Zu- noch eine Abnahme der Fermentaktivität* feststellen.

Bei einer Gegenüberstellung der Befunde in den einzelnen Lebensabschnitten kommt man — bei aller gebotenen Zurückhaltung — zu folgendem Schluß.

Die *Aktivität der alkalischen Ph.* in den Hz. des Ovars scheint *zur Zeit der Pubertät und Postpubertät unabhängig von der Komplexgröße durchschnittlich stark zu sein. Während der Geschlechtsreife* scheint die Aktivität *Schwankungen* zu unterliegen, soweit unsere Befunde hier eine Aussage erlauben. Auch bei günstigem Zeitfaktor tritt gerade hier oft eine schwache Aktivität auf. *Im Klimakterium scheint die Ph.-Aktivität durchschnittlich wieder an Intensität zuzunehmen und ist auch im Senium nicht erloschen.*

Es erhebt sich nun die Frage, wo in den Hz. vorwiegend das Ferment verankert ist und welche Hz. es sind, die eine starke Ph-Aktivität aufweisen.

Zur Beurteilung der *Lokalisation des Fermentes* eignen sich nur die schwächeren Wirksamkeitsgrade, da bei starkem Ausfall der Reaktion die ganze Zelle diffus geschwärzt ist und keine Differenzierungen mehr vorgenommen werden können. Betrachten wir aber die Hz. bei einem

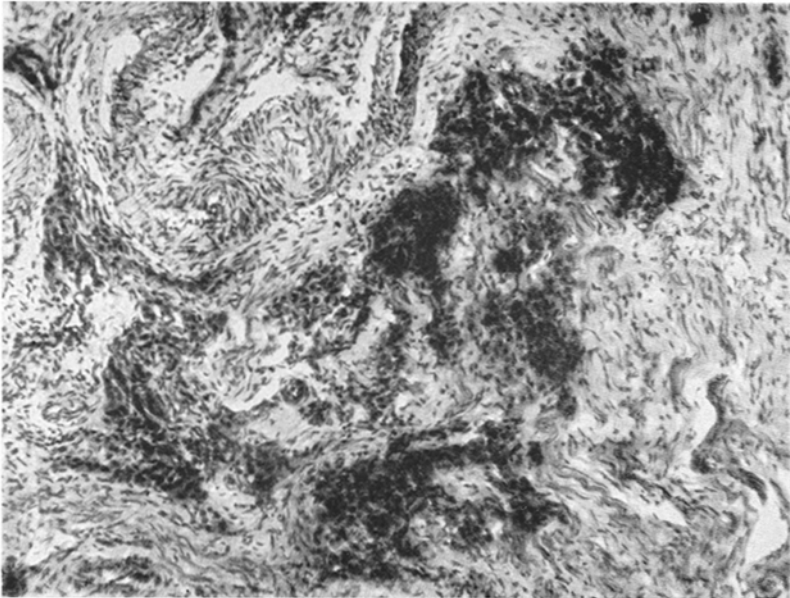


Abb. 5. Übersicht über mehrere große Hiluszellkomplexe bei mittelstarker Phosphataseaktivität. Fall 10

Aktivitätsgrad von III—IV, so sieht man in den fermenthaltigen Zellen eine diffuse, über das Cytoplasma verteilte Schwärzung. Eine Bevorzugung bestimmter Cytoplasmazonen ist nicht zu erkennen. Eine Anfärbung der Kerne ist nur dann zu beobachten, wenn durch einen zu langen Zeitfaktor allgemeine Diffusionsvorgänge auch in der Umgebung der Hz. auftreten. Mit zunehmender Aktivität tritt auch eine verschieden intensive Anfärbung der Zellkerne auf, die von einer schwachen Konturierung der Kernmembran bis zur homogenen Schwärzung des ganzen Kernes reicht. FEIGIN, WOLF und KABAT haben gezeigt, daß die Mitbeteiligung der Kerne bei der Darstellung der alkalischen Ph. im Cytoplasma bei starker Aktivität auf einem Artefakt beruht und dabei angenommen, daß hier eine Diffusion vorliegt. Auch wir konnten eine Mitbeteiligung der Kerne nur bei starker Anfärbung des Cytoplasmas beobachten.

Zur Prüfung der Frage, welche Hz. eine besonders starke Aktivität aufweisen, haben wir auf bestimmte Typen von Hz. zurückgegriffen, die wir bei einer früheren Untersuchung feststellen konnten. Es lassen sich dabei Zellen mit kompaktem, acidophilem Cytoplasma („A-Zellen“) und mit geringem oder negativem Lipoidgehalt vacuolisierten Zellen („V-Zellen“) mit kräftigem Lipoidgehalt (Lipoidtröpfchen im eingebetteten Material herausgelöst) gegenüberstellen. Schließlich beobachteten wir noch einen dritten Typ, bei dem wir von Umwandlungsformen sprachen. Hier handelt es sich nicht um typische Hz., sondern um mesenhymale, peri- oder intraneurale Elemente, die wir mit WALLART für Entwicklungs- oder Rückbildungsformen von Hz. halten.

Es ergibt sich bei einer Ordnung der 3 Zellarten nach Aktivgraden eine gewisse Gleichmäßigkeit im Aktivitätsgrad der 3 Typen. So beobachten wir bei den *A-Zellen* regelmäßig eine *Aktivität vom Wirksamkeitsgrad I—II*, ein Fall mit langem Zeitfaktor ausgenommen. Dies erscheint insofern von Bedeutung, als sich bei früheren Untersuchungen ergab, daß vorwiegend dieser Zelltyp auch fuchsinophile Substanz enthält. Es erscheint denkbar, daß sich hier bestimmte funktionelle Zusammenhänge andeuten. Die vacuolisierten, also *lipoidreichen Zellen* zeigen durchschnittlich nur *schwache Ph.-Aktivität*. Die von uns zum Teil als Carbonsäurelipide erkannten Fettstoffe sind herausgelöst, das zurückbleibende cytoplasmatische Grundgerüst zeigt nur geringe Ph.-Aktivität. Die Frage, inwieweit das Ferment an die herausgelösten Lipide gebunden ist, bleibt noch zu klären. Bei den Umwandlungsformen („U-Zellen“) ist die Fermentaktivität schwach. Dies stimmt insofern mit unseren Erwartungen überein, als wir für diese Zellen keine wesentliche funktionelle Leistung annehmen. Wir sehen in dieser Gruppe besonders auch Fälle im höchsten Lebensalter, in denen offenbar Rückbildungsformen mit vermindertem Funktionszustand auftreten.

Die Bedeutung der alkalischen Phosphatase in den Hiluszellen des Ovars

Die Rolle der Phosphatasen im Körper als Katalysatoren beim Ein- und Ausbau von Phosphorsäuren und ihren Estern in organische Bausteine ist allgemein bekannt. Dabei dürfte insbesondere die alkalische Ph. für den Stoffwechsel der Fette und Kohlenhydrate unentbehrlich sein. Nachdem uns die Darstellung des Fermentes konstant in allen Fällen gelungen ist, möchten wir annehmen, daß das *Ferment für den Zellstoffwechsel der Hz. unentbehrlich* ist. Dabei kann hier jedoch nicht der elementar-vitale Stoffwechsel gemeint sein, sondern nur der Stoffwechsel einer höheren Funktion, da sonst ja in allen Zellen des Organismus das Ferment nachweisbar sein müßte. Es enthalten jedoch nur diejenigen Zellen oder Organe das Ferment in wechselnder Stärke, die besonders differenzierte Leistungen zu vollbringen haben. Dazu

gehören neben embryonalen Geweben insbesondere Zellen mit sekretorischer Funktion, wie Drüsenepithelien, die Tubulusepithelien der Niere, die Leberepithelien u. a.

Über die Ph. in endokrinen Organen gibt es nur relativ wenige Beobachtungen, insbesondere an menschlichem Material. OBER konnte zeigen, daß im Ovar die Zellen der Theca interna des wachsenden Follikels, die Granulosa-Luteinzellen des Corpus luteum und die dazwischenliegenden Capillaren konstant alkalische Ph. enthalten. GENESI stellt eine Fermentaktivität in den Zellen der Theca interna, in der Granulosa folliculi und im Corpus luteum fest. Bei den eigenen Untersuchungen sahen wir gleichfalls in einem Fall die Thecazellen Ph.-haltig, die hier durch Zufall auf dem Schnitt noch mitgetroffen waren, während wir sonst ja auf die Mituntersuchungen des Ovars verzichteten.

Aus einer Übersicht über das Vorkommen in anderen endokrinen Organen geht hervor, daß die bisher untersuchten endokrinen Organe regelmäßig alkalische Phosphatase enthalten. Das Ferment scheint also bei der Katalysierung aller jener Stoffwechselvorgänge beteiligt zu sein, die zum Aufbau der Hormone führen. In Verbindung mit den früher von uns an den Hz. erhobenen Befunden glauben wir, daß der regelmäßige *Gehalt an alkalischer Ph. in den Hz. des Ovars* als *Substrat einer aktiven Zelleistung im Sinne einer Hormonsynthese* gedeutet werden darf. Dabei scheinen unsere Untersuchungen darauf hinzuweisen, daß — bei Annahme einer engen Relation zwischen der Intensität des Stoffwechsels und der Fermentwirksamkeit — der Stoffwechsel der Hz. nicht in allen Lebensabschnitten gleichmäßig stark ist, sondern Schwankungen aufweist. Hier fällt besonders die lebhafte Aktivität in der Pubertät und im jugendlichen Alter auf. Ebenso ergeben sich starke Aktivitätsgrade im Klimakterium, jeweils also zu einem Zeitpunkt des Beginns und des Erlöschens der ovariellen Tätigkeit. In der Pubertät fällt diese lebhafte Aktivität zusammen mit dem ersten Auftreten der Hz. seit der Fetalzeit, im Klimakterium geht sie einer von uns früher nachgewiesenen Vermehrung der Hz. parallel. Auch im Senium ist sie noch vorhanden, wenn hier gleichzeitig auch Rückbildungsvorgänge (mit Umwandlungsformen) zu beobachten sind. Über die Ph.-Aktivität der Hz. im geschlechtsreifen Alter haben unsere Untersuchungen keine eindeutigen Vorstellungen erbracht, im Vergleich zu den jugendlichen Fällen scheint hier eher mit einer gewissen Abnahme der Stoffwechsel-tätigkeit zu rechnen zu sein.

Zusammenfassung

An 28 Sektionsfällen zwischen 15 und 95 Jahren wurde in den Hiluszellen des Ovars regelmäßig alkalische Phosphatase nachgewiesen. Dabei ergaben sich unterschiedliche Aktivitätsgrade, die zum Teil auf

der verschiedenen Zeitspanne zwischen Tod und Entnahme des Materials beruhen, zum Teil aber tatsächlichen Schwankungen in der Fermentaktivität entsprechen. Die wenig lipoidhaltigen, acidophilen Hz. erweisen sich dabei als durchweg stark positiv, die lipoidreichen, im eingebetteten Material vacuolisierten Hz. sind dagegen schwach positiv oder negativ, ebenso die Umwandlungsformen von Hz. Starke Aktivitätsgrade ergeben sich in der Pubertät und im jugendlichen Alter, sowie im Klimakterium, jeweils also zu einem Zeitpunkt des Auftretens bzw. der Vermehrung von Hz. Es wird in Analogie zum Ph.-Gehalt anderer endokriner Organe angenommen, daß das Ferment im spezifischen Stoffwechsel der Hz. unentbehrlich ist und als Katalysator bei einer Hormonsynthese dient.

Literatur

- ASHBEL and A. M. SELIGMAN: *Endocrinology* **44**, 656 (1949). — BACHMANN, R.: *Handbuch der mikroskopischen Anatomie*, Teil 5, Bd. 6. 1954. — BERGER, L.: *Virchows Arch.* **267**, 433 (1928). — DHOM, G.: *Z. Geburtsh.* **142**, 182 (1954). — FEIGIN, WOLF u. KABAT: *Amer. J. Path.* **26**, 647 (1950). — GOMORI, A. J.: *Microsc. Histochemistry*. Chicago 1952. — OBER, K. G.: *Klin. Wschr.* **1950**, 9. — STANGE, H.: Persönliche Mitteilung. — STERNBERG, W. H.: *J. of Path.* **25**, 493 (1949). — WALLART, J.: *Arch. Gynäk.* **138**, 546 (1929); **143**, 176 (1930).

Priv.-Doz. Dr. med. G. DHOM,
Pathologisches Institut der Universität Würzburg
