

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Elektronenmikroskopische Untersuchungen von intranucleären Einschußkörpern *

Von
W. WESSEL

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. Januar 1958)

Die intranucleären Einschußkörper wurden vor etwa zwei Jahrzehnten als eine einheitliche Gruppe betrachtet und im allgemeinen als Folge einer Virusinfektion angesehen. COWDRY unterschied später je nach der Reaktion des betroffenen Kernes zwei Typen von Einschußkörpern, A und B. Bei dem Typ A, der nach unseren heutigen Erkenntnissen in vielen Fällen den Virus-Einschlüssen entspricht, ist der Kern hochgradig geschädigt, und die zugehörige Zelle geht mit den Zeichen einer schnellen Degeneration zugrunde. Bei dem Typ B hingegen sind die Kerne nur regional und nicht in ihrer Gesamtheit betroffen und zeigen keine Degenerationserscheinungen.

In manchen Fällen wurden Einschlüsse vom Typ B sogar in normalen Körperzellen gefunden, ohne daß eine Erkrankung als Ursache für ihr Entstehen nachgewiesen werden konnte. Hier sind vor allem die Untersuchungen von SCHILLER²⁰ und WILSON²⁴ an Mäuselebern, von MEYER¹⁷ an Epiphysen und von HETT¹³ an Nebenhodenepithelien zu erwähnen. Intranucleäre Inklusionen, die — im Gegensatz zu den vorher genannten — *durch schädigende äußere Einflüsse* hervorgerufen wurden, sind vor allem von HAMPERL¹¹, BUCHMANN⁷ und LAMBERS¹⁶ nach chronischer und akuter Colchicinvergiftung in Mäuselebern, von ZOLLINGER^{26, 27} in Nierenepithelien bei chronischer Bleivergiftung und nach Röntgenbestrahlung und von RATHER¹⁹ sowie KLEINFELD u. Mitarb.^{14, 15} bei Thioacetamidvergiftung in Leberzellen der Maus beschrieben worden.

In keinem der genannten Fälle waren Viren als mögliche Ursachen nachzuweisen. Für die nicht virogene Entstehung der Einschlüsse spricht auch die negative Feulgenreaktion²⁶.

Daß „intranucleäre“ Inklusionen in *Tumorzellen* nicht selten sind, zeigen die Befunde von v. ALBERTINI¹ und ZOLLINGER²⁷, die sie in Lymphogranulom- und Carcinomzellen gesehen haben. Auch unter *normalen Bedingungen* mögen sie vorkommen, worauf eigene elektronenmikroskopische Untersuchungen an Rattenepiphysen hindeuten; die Zellkerne weisen hier tiefe Buchten auf, die im Licht-

* Ein Teil der Arbeit mit den Abb. 2, 4 und 5 wurde am Institut de Recherches sur le Cancer, Villejuif, durchgeführt, und ich danke Herrn Prof. CH. OBERLING und Herrn Dr. BERNHARD für ihre Hilfe und freundliche Unterweisung.

mikroskop bei geeigneter Schnittführung als Kerneinschlüsse imponieren, ähnlich wie sie von MEYER¹⁷ beschrieben worden sind.

Da die unterschiedlichsten Einschlüsse zur Bildung von Kerneinschlüssen vom Typ B führen, wird es sich dabei sicherlich nicht um eine spezifische Reaktion der Zelle handeln (ZOLLINGER²⁷). Fast alle genannten Autoren wiesen darauf hin, daß die Entstehung der Inklusionen von einer hochgradigen Volumvermehrung der Zellkerne begleitet war.

Das *färberische Verhalten* der Einschlüsse ist einheitlich. Sie färben sich mit Methylgrün-Pyronin und Hämatoxylin-Eosin rot, mit PAS zart-violett, sie sind Feulgen-negativ und zeigen eine positive Ribonuklease-Reaktion. Diese Färbereigenschaften weisen darauf hin, daß sie reich an Ribonucleinsäuren sind. Gestützt auf die große Ähnlichkeit von Nucleolen und Kerneinschlüssen in Form und Färbung nahm man an, daß es sich bei den Einschlüssen um gestauten Nucleolenmaterial handele, das sich infolge einer Überproduktion der Kernkörperchen oder einer Störung des „Ausschleusungsmechanismus“ im Kern ansammelt^{2, 27}.

Im Folgenden soll nun versucht werden, mit Hilfe des Elektronenmikroskopes etwas über Art und Entstehung der Kerneinschlüsse auszusagen, und zwar sollen „pathologische“, d. h. durch schädigende äußere Einflüsse entstandene (s. a. WESSEL²) mit spontan in einigen Geweben vorkommenden Kerneinschlüssen verglichen werden. Hierzu dienen im ersten Falle Einschlüsse, welche durch Colchicineinwirkung in Leberzellen der Maus hervorgerufen sind, im zweiten die ständig vorhandenen Inklusionen des Crocker-Ascites-Sarkoms.

Material und Methode

Zu unseren Untersuchungen benutzten wir 30 weiße Inzuchtmäuse, denen an 4 aufeinanderfolgenden Tagen je 0,03 mg *Colchicin* intraperitoneal injiziert wurde. Etwa 12–24 Std nach der 4. Injektion töteten wir die Tiere, entnahmen etwas Lebergewebe, das in 1%iger gepuffelter Osmiumsäure fixiert, in Methacrylat eingebettet und im Elektronenmikroskop untersucht wurde. Parallel hierzu liefen lichtmikroskopische Kontrollen.

Für die Versuche am *Crocker-Sarkom*, das in seiner Ascitesvariante in unserem Institut gezüchtet wird, verwandten wir 20 weiße Inzuchtmäuse, denen 10 Tage nach der Übertragung der Crocker-Ascites entnommen wurde. Für die elektronenmikroskopische Präparation zentrifugierten wir den Ascites bei etwa 300 g 2 min lang und tropften das Zentrifugat in 1%ige gepufferte Osmiumsäure, wobei kleine feste Kugeln von etwa 1 mm Durchmesser entstanden, die dann wie solides Gewebe weiterbehandelt werden konnten.

Bei den *lichtmikroskopischen Kontrollen* der Tumorzell-Einschlüsse erwiesen sich Ausstrichpräparate als ungeeignet, da das stark basophile Cytoplasma die Einschlüßkörper oft verdeckte. Aus diesem Grunde betteten wir das Ascites-Zentrifugat in Paraffin ein und untersuchten die Tumorzellen in möglichst dünnen Paraffinschnitten, wobei die Inklusionen sich deutlich hervorhoben.

Ergebnisse

1. Intranucleäre Einschlüsse in Leberzellen bei Colchicin-Vergiftung.

Bei den Kontrolluntersuchungen im Lichtmikroskop fiel auf, daß die Einschlüsse etwa 12—24 Std nach der 4. Injektion am häufigsten auftraten, während sie nach 48 Std weitgehend verschwunden waren, ohne daß sie jedoch im Cytoplasma oder außerhalb der Zellen nachgewiesen werden konnten.

Mit der Bildung der Kerneinschlüsse geht stets eine erhebliche Volumvermehrung aller Kerne einher, die in der Häufigkeitsverteilung

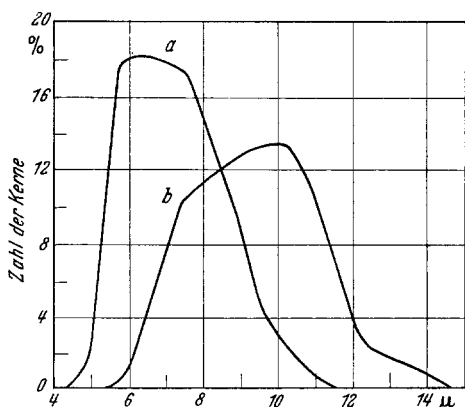


Abb. 1. Häufigkeitsverteilung der Kerndurchmesser von Leberzellen der Maus. *a* Normalkurve; *b* nach 5-tägiger intraperitonealer Behandlung mit Colchicin (0,4 mg/die)

der Kerndurchmesser ihren Ausdruck findet (Abb. 1). Die Kurve *b*, welche die Kerndurchmesser nach fünf-tägiger Colchicinbehandlung wiedergibt, liegt mit ihrem Mittelwert außerhalb der Streubreite der Normalkurve *a*, so daß man hier also von einer echten Größenzunahme sprechen kann. Wie man es nicht selten bei pathologisch veränderten Kurven findet, fällt die Häufigkeit in Richtung des Normalwertes langsamer ab. Die Breitbasigkeit der

Kurve *b* scheint auf einen gestörten Regelmechanismus der Kerngröße hinzuweisen. Bei Rückgang der Kernvergrößerung nimmt gleichzeitig auch die Zahl der Einschlüsse ab.

Das färberische Verhalten der von uns untersuchten Inklusionen entspricht den Befunden anderer Autoren. Im allgemeinen färben sie sich mit Hämatoxylin-Eosin und Methylgrün-Pyronin rot, geben eine positive Ribonuclease-Reaktion und sind Feulgen-negativ.

In Abb. 2 ist eine Leberzelle mit einem „intranucleären“ Einschuß wiedergegeben. Man erkennt hier deutlich den basophilen Randsaum und das hellere homogene, eosinophile Zentrum, welches reichlich Ribonucleinsäuren, wie die Farbreaktionen zeigen, enthält. Nicht immer stellt sich der Randsaum in dieser Deutlichkeit dar: man findet mitunter Kerneinschlüsse, deren Grenze fließend mit einer leicht basophilen Zone in den Kern übergeht. In einzelnen Fällen ist auch die Eosinophilie der Inklusionen nicht sehr deutlich und zeigt Schwankungen in Richtung einer leichten Basophilie, die allerdings nicht die Intensität des Chromatins besitzt.

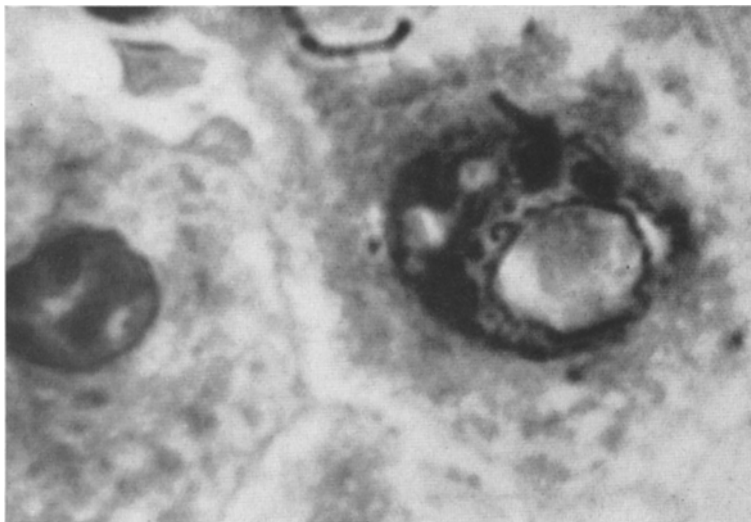


Abb. 2. „Intranucleärer“ Einschußkörper in einer Leberzelle der Maus nach 4tägiger Cochineinbehandlung (0,4 mg/die). Lichtmikroskop; Vergr. 1800 ×

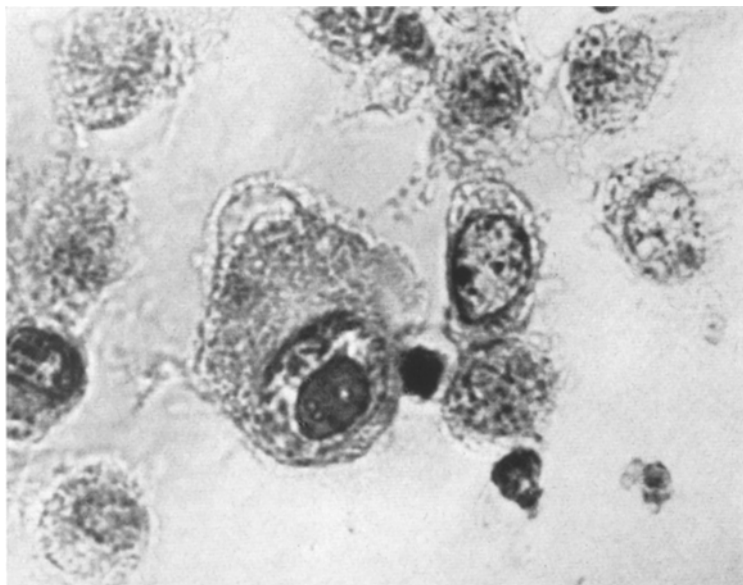


Abb. 3. „Intranucleärer“ Einschuß in einer nicht vorbehandelten Crocker-Ascitessarkomzelle. Lichtmikroskop; Vergr. 1000 ×

Im Elektronenmikroskop finden wir ebenso wie KLEINFELD und GREIDER als Grenze zwischen Kern und Einschuß stets eine Doppelmembran. Die elektronenmikroskopischen Bilder lassen keinen Zweifel,

daß es sich hierbei um die Grenzmembran zwischen Kern und Cytoplasma handelt. Im Innern der Einschlüsse erkennt man Palade-Granula, Ergastoplasma-Membranen, osmiophile Kondensate und manchmal auch konzentrisch aufgebaute lamelläre Strukturen, die an degenerierendes Ergastoplasma oder untergehende Mitochondrien erinnern (Abb. 4), wie sie von SCHULZ²¹ in Alveolarepithelien beschrieben sind.

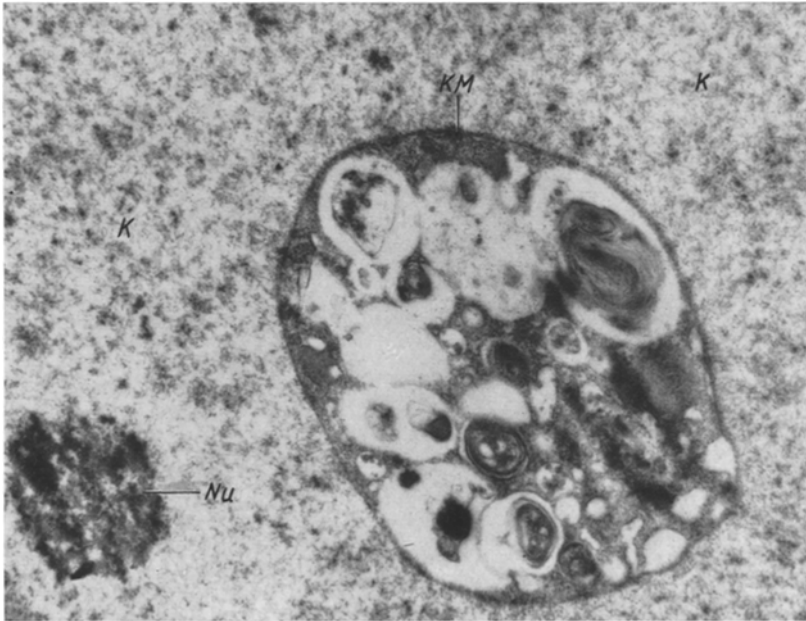


Abb. 4. „Intranucleärer“ Einschuß in einer Leberzelle der Maus nach 4tägiger intraperitonealer Colchicinbehandlung mit zahlreichen osmiophilen Granula, degenerierendem zum Teil lamellärem Ergastoplasma (oder Mitochondrien?), rundem Nucleolus (*Nu*) und deutlicher Kernmembran (*KM*). *K* Kernsubstanz. Elektronenmikroskop RCA EMU 2; Vergr. 40 000 ×

Diese Elemente, die den „Kerneinschuß“ aufbauen, gehören sicher dem Cytoplasma an. Mit Hilfe unserer bei diesen Untersuchungen gewonnenen elektronenoptischen Bilder läßt sich eine ganze Degenerationsreihe vom frischen Einschußkörper mit noch intakten Organellen über eine Bildung osmiophiler Kondensate bis zur Auflösung der lamellären Strukturen aufstellen. Die Degeneration und der Abbau der Einschuß-Bestandteile kommt besonders in der Abb. 6 zum Ausdruck, wo reichlich osmiophile Kondensate angehäuft sind, von denen sich kaum noch sagen läßt, welchen Cytoplasmastrukturen sie vor ihrer degenerativen Veränderung entsprochen haben. Daß es sich bei diesen Kondensaten um eine Agglomeration von Palade-Granula bzw. der diesen Granula entsprechenden Ribonucleinsäureteilchen handeln könnte, läßt sich nur

vermuten. Neben den osmiophilen Anteilen treten lamelläre konzentrisch angeordnete Gebilde auf, die sich bei weiterem Abbau aufsplittern und größtenteils verschwinden. Man erkennt hier ferner die durch einen Pfeil gekennzeichnete offene Verbindung zwischen Einschuß und Cytoplasma und sieht, wie sich die Kernmembran am unteren und oberen Pol dieser Öffnung umschlägt. Die Schwellung der Mitochondrien führen

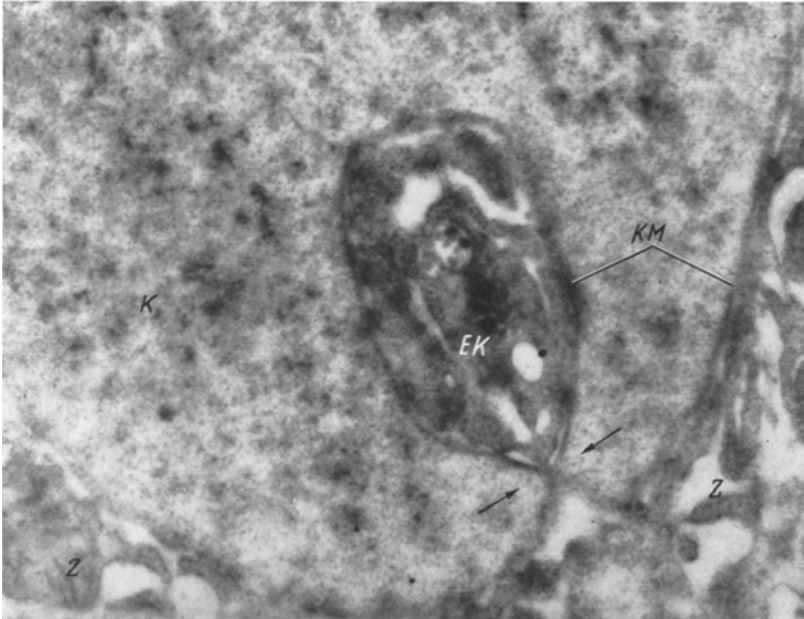


Abb. 5. „Intranucleärer“ Einschuß in einer Leberzelle der Maus mit Anschnitt der engen Verbindung zwischen Einschuß und Cytoplasma ($\rightarrow \leftarrow$). Cytoplasma (Z) mit Ergastoplasmamembranen; Kern (K), Kernmembran (KM), Nucleolen, Einschuß (EK) mit granulärem Ergastoplasma. Elektronenmikroskop RCA EMU 2; Vergr. 28 000 \times

wir auf die Giftwirkung des Colchicins zurück. In Abb. 5 ist ebenfalls die cytoplasmatische Verbindung zwischen dem Einschuß und dem übrigen Cytoplasma angeschnitten. Auch hier erkennt man deutlich die Doppelmembran, die den Einschußkörper vom Kern trennt, sowie die cytoplasmatischen Bestandteile im Innern. Dieses Bild entspricht jedoch einem frischen Einschuß, bei dem die Abbauvorgänge noch nicht so weit fortgeschritten sind wie in Abb. 6.

Erwähnt sei noch, daß die Nucleolen unter der Colchicin-Einwirkung häufig ein reticuläres Aussehen besitzen, ähnlich wie es BERNHARD u. Mitarb.⁶ bei Hepatomen beschreiben.

2. Intranucleäre Einschlüsse in Crocker-Sarkomzellen. Im *lichtmikroskopischen Bild* besitzen die Kerneinschlüsse des Crocker-Sarkoms

im Prinzip das gleiche Aussehen (Abb. 3). Durch die stärkere Basophilie des Cytoplasmas und den hellen blasigen Kern kehren sich, im Vergleich

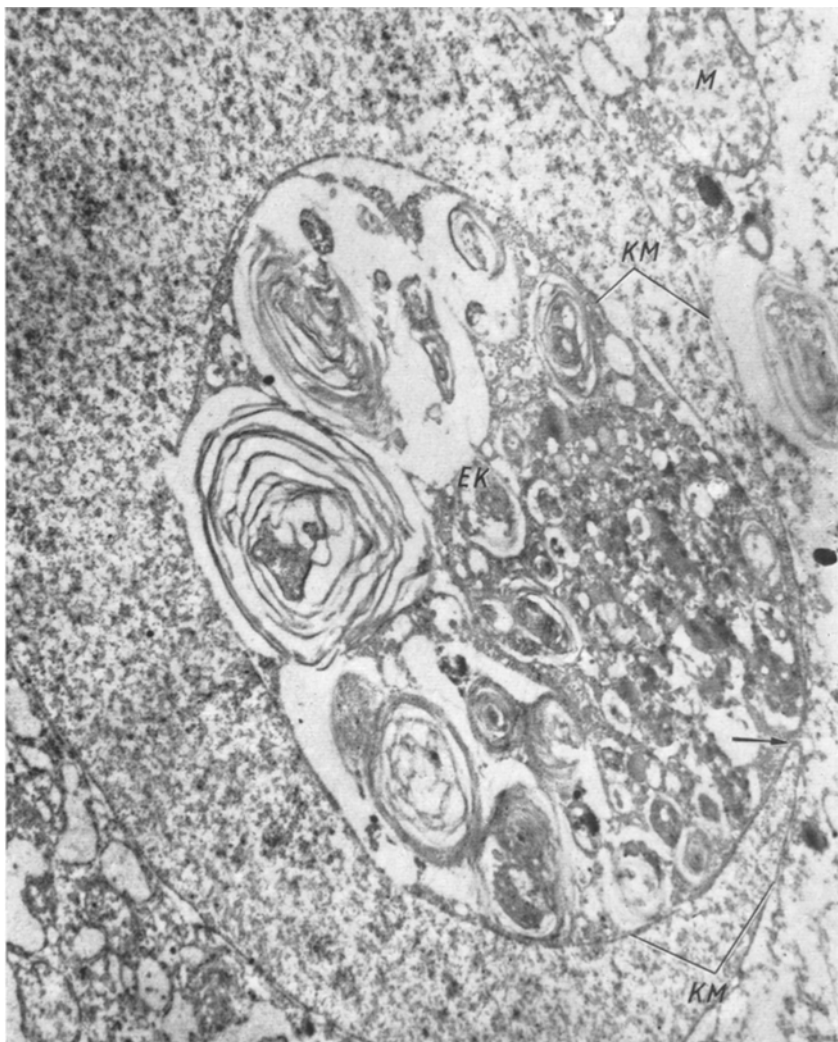


Abb. 6. „Intranucleärer“ Einschuß in einer Leberzelle der Maus nach 4tägiger Colchicinbehandlung. Degeneration und Abbau der eingeschlossenen Cytoplasma-Organellen. Kernmembran (KM), Cytoplasma mit geschwollenen Mitochondrien (M), Einschußkörper (EK) mit osmiophilen Kondensaten und sich auflösenden konzentrischen Membranen. Offene Verbindung zwischen Cytoplasma und Einschuß (→). Elektronenmikroskop Zeiss EM 8; Vergr. 30 000 ×

zu den Leberzeleinschlüssen, die Hell-Dunkel-Werte innerhalb der Zelle um. Hierdurch erscheinen die Einschlüsse dunkler und der umgebende

Kern heller, so daß die Bilder der Crocker-Einschlüsse gegenüber den Leberzell-Inklusionen wie deren photographisches Negativ wirken (vgl. Abb. 2 und 3). Im übrigen zeigen sie jedoch in ihrem färberischen Verhalten bei der Feulgen- und der Ribonuclease-Reaktion keine Unter-

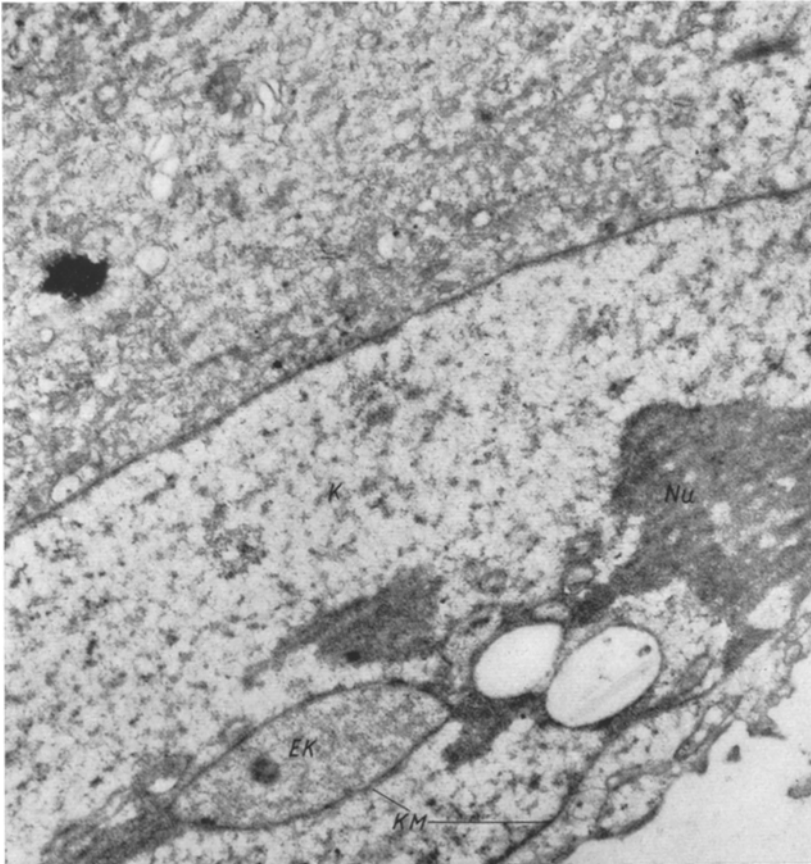


Abb. 7. Crocker-Ascitesarkomzelle mit Einschußkörper (EK), der granuläres Ergastoplasma enthält. Kernmembran (KM), Kern (K), Nucleolus (Nu). Elektronenmikroskop Zeiss EM 8; Vergr. 15 000 ×

schiede. Auch der Wechsel der Färbung von der reinen Eosinophilie bis zur leichten Basophilie sowie die unterschiedlichen Begrenzungsverhältnisse mit scharfer Membran oder fließendem Übergang zum Kern finden sich hier wie dort. Neben den allseitig von Kernsubstanz umgebenen Einschlüssen sieht man häufig tiefe Kernbuchten, die das gleiche intensiv gefärbte Material enthalten wie die Einschlüsse.

Die *elektronenmikroskopischen Bilder* zeigen, daß die „intranucleären“ Einschußkörper aus Cytoplasma bestehen und meist gut erhaltene

Mitochondrien, Ergastoplasma und Golgi-Elemente enthalten. Entsprechend ihrer cytoplasmatischen Natur sind sie stets gegen den Kern



Abb. 8. Crocker-Ascitestumorzelle mit „intranucleären“ Einschlüssen (EK), in welchen sich Mitochondrien, granuläres Ergastoplasma und Golgi-Elemente befinden. Zellkern (K), Kernmembran (KM), Nucleolen (Nu), Cytoplasma (Z). Elektronenmikroskop Zeiss EM 8; Vergr. 18 000 \times

zu von der Kernmembran begrenzt. Man muß also annehmen, daß auch hier lediglich Cytoplasma in den Kern eingeschlossen ist. Die Form der Einschlüsse erscheint hier allerdings meist unregelmäßig mit spitzen Ausläufern (Abb. 8) und nicht so abgerundet wie bei den Leberzellen (s. oben).

Vergleicht man die lichtmikroskopisch sehr ähnlichen Einschlüsse von colchicinvergifteten Leberzellen und vorbehandelten Crocker-Zellen miteinander, so ergeben sich im Elektronenmikroskop deutliche Unterschiede. In beiden Fällen handelt es sich zwar um Cytoplasma, die Inklusionen zeigen aber bei den Leberzellen alle Zeichen einer Degeneration, während die Cytoplasma-Bestandteile in den Einschlüssen der Sarkomzellen völlig dem normalen Cytoplasma entsprechen.

Besprechung

In den beiden hier untersuchten Formen von Einschlüßkörpern, den Einschlüssen bei Colchicinvergiftung in Leberzellen und den normalerweise in Crocker-Ascitestumorzellen vorkommenden, handelt es sich also um *cytoplasmatische Einstülpungen* in den Kern, wobei die Grenze zwischen Einschlüß und Kern von einer Doppelmembran gebildet wird, wie sie für die Kernmembran typisch ist. Für ihre cytoplasmatische Natur spricht vor allem ihr Inhalt, der meist aus Mitochondrien, Golgi-Elementen und Ergastoplasma besteht. Wir finden keine Anhaltspunkte dafür, daß hier umgewandelte Nulceolen oder nucleäre Blasen vorliegen. Zu diesem Schluß kommen auch KLEINFELD und GREIDER¹⁵ bei ihren elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Kerneinschlüssen bei Thioacetamidvergiftung und einem Fall von biliärer Cirrhose. Die dort gefundenen Einschlüsse entsprechen etwa unserem Colchicintyp. In ähnlicher Weise sind vielleicht auch die von HAREL¹² beobachteten Inklusionen in Leberzellen nach Behandlung mit radioaktivem Gold zu beurteilen. Schließlich seien hier noch Untersuchungen an Ehrlich-Ascitestumorzellen erwähnt²², die ebenfalls cytoplasmatische Einstülpungen im Kern aufweisen.

Die *Crocker-Einschlüsse* möchten wir, da sie unter normalen Bedingungen ständig vorkommen, als echte Zelleigenschaft ansehen. Als Ursache für ihr Auftreten mögen vielleicht rein mechanische Einflüsse wirksam sein. Jedenfalls wird der Zelle durch die damit verbundene Oberflächenvergrößerung des Kernes die Möglichkeit eines schnelleren Stoffaustausches zwischen Kern und Cytoplasma gegeben. Dies könnte besonders für die rasch wachsenden Tumorzellen von großer Wichtigkeit sein. Mit einem durchschnittlichen Kerndurchmesser von etwa 7μ gehört die Crockerzelle ebenfalls zu den „großkernigen“ Zellen und folgt somit der Regel, daß man Inklusionen vor allem in „Riesenkernen“ oder hypertrophischen Kernen findet.

Bei den *Inklusionen in den Leberzellkernen*, die im Gegensatz zu den Crocker-Einschlüssen erst nach Colchicineinwirkung entstanden sind und einen pathologisch veränderten Inhalt besitzen, erhebt sich zunächst die Frage, wie die Schädigung beschaffen sein muß, die zum Auftreten der Einschlüsse führt, und auf welche Weise diese gebildet werden.

Anscheinend spielt hier die *Kernschwellung* eine große Rolle (Abb.1). Diese Annahme wird dadurch bekräftigt, daß die Inklusionen mit dem Auftreten der Kernschwellung entstehen und bei ihrem Abklingen verschwinden. Der genaue Mechanismus ist jedoch unklar. Man könnte annehmen, daß sich an dem aufgetriebenen Kern Stellen geringeren Widerstandes finden, welche dem Gegendruck des Cytoplasmas nachgeben und eingebuchtet werden. Wahrscheinlicher ist es jedoch, und hierauf weist auch der Inhalt der Einschlüsse hin, daß die Ansammlungen festerer Cytoplasmastrukturen, wie sie die Mitochondrien und Teile des Golgi-Apparates darstellen, dem anschwellenden Kern einen größeren Widerstand entgegensetzen, so daß der Kern gleichsam „um sie herum schwillt“ und Teile von ihnen einschließt.

Für diese, das Auftreten der Einschlußkörper begleitende Kernschwellung werden die unterschiedlichsten Einflüsse verantwortlich gemacht. Nach ALTMANN³ ist sie oft Ausdruck einer gesteigerten Zell-tätigkeit. Diese Deutung trifft für unsere Untersuchungen und die Thioacetamid-Versuche von KLEINFELD und GREIDER wohl nicht zu, da das Colchicin und das Thioacetamid eher zu einer Lähmung als zu einer Steigerung des Zellstoffwechsels führen. Ebenso wenig wird man bei der kurzen Versuchsdauer und den hohen Colchicindosen eine Polyploidisierung für die Kernvergrößerung verantwortlich machen können. Da die genannten Möglichkeiten für eine Größenzunahme der Kerne ausscheiden, ist anzunehmen, daß die Giftwirkung zu einer Schädigung der Zelle mit starker Wasseraufnahme, also zu einer Art „Kernödem“ (BENNINGHOFF) geführt hat. Hierfür spricht auch der Umstand, daß die Kerne unter der Behandlung ein blasiges, aufgelockertes Aussehen bekommen. Dieses „Kernödem“ würde in unserem Falle durch Colchicin, bei KLEINFELD und GREIDER¹⁵ durch Thioacetamid und bei den Untersuchungen von ZOLLINGER^{2, 27} durch eine Bleivergiftung sowie ionisierende Strahlen hervorgerufen sein. Wie LAMBERS¹⁶ und BUCHMANN⁷ zeigen konnten, führt auch die chronische Colchicinvergiftung zur Ausbildung von Kerneinschlüssen, und der Grad der Volumzunahme entspricht etwa der Häufigkeit der Einschlüsse.

Eine weitere Frage wird durch die starke *Konzentration osmiophiler Granula* in den Einschlüssen aufgeworfen. Auch hier sind wir auf Vermutungen angewiesen. Da dieses granuläre Material offenbar den Palade-Granula entspricht, dürfte es wahrscheinlich aus Ribonucleinsäure bestehen und dem Kern entstammen. Es wäre nun möglich, daß sich diese durch die Kernmembran hindurchdiffundierten Substanzen in den sackartigen Einstülpungen anhäufen, während sie an der übrigen Kernoberfläche durch die Plasmaströmung nach ihrem Austritt aus dem Kern sofort verteilt werden, wodurch die hohe Konzentration dieser Granula in den Einschlußkörpern erklärt wäre.

Warum *degenerieren* nun die eingeschlossenen Strukturen in vielen Fällen? Wir möchten annehmen, daß die Einschlüsse, die fast allseitig von Kernmasse umgeben sind, hinsichtlich ihrer Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen ungünstiger gestellt sind als der Rest der Zelle. Diese schlechten Ernährungsbedingungen würden dann zur Degeneration und zum Abbau der eingeschlossenen Mitochondrien und des Ergastoplasmas führen, Umstände, unter denen sich auch sonst häufig osmophile Kondensate bilden. Es wäre möglich, daß diese Kondensate größtenteils den Ribonucleinsäuren der Palade-Granula und Mitochondrien entsprechen, die beim Abbau der Strukturen depolymerisiert werden und auf diese Weise durch Freiwerden reduzierender Gruppen die Osmiumsäure stärker reduzieren.

Hinsichtlich des *Verschwindens der Inklusionen* aus den Leberzellkernen liegt die Vermutung nahe, daß sich das Kernödem nach Abklingen der Schädigung zurückbildet und dabei die eingeschlossenen Cytoplasmateile frei werden. Dem entspricht auch die Tatsache, daß es uns nie gelungen ist, gut abgegrenzte Einschußkörper im Cytoplasma nachzuweisen.

Bei alleiniger Betrachtung im *Lichtmikroskop* können die Einschlüsse manchmal zu *Fehldeutungen* Anlaß geben. Nach ihren färberischen Eigenschaften und der Morphologie, welche der der Nucleolen sehr ähnelt, sind derartige Inklusionen oft als vergrößerte Nucleolen oder Ansammlungen nucleolären Materials im Kern angesehen worden. Man sprach in diesem Zusammenhang auch von nucleolären Blasen^{2, 10}. ALTMANN³ brachte das Vorhandensein eines solchen „nucleolären“ Depots mit einem gesteigerten Stoffwechsel der betreffenden Zelle in Verbindung. Für eine solche Auffassung spricht der häufig zu beobachtende fließende Übergang in die Kernsubstanz über eine leicht basophile Zone. Auch wir machten diese Beobachtung und fanden sogar in einigen Fällen bei demselben Einschußkörper auf der einen Seite eine scharfe, durch die obige Annahme nicht zu erklärende Membran und auf der anderen den weichen, fließenden Kernübergang. Wir möchten das aber in anderer Weise deuten. In Abb. 9 ist der Aufriß eines Schnittes durch eine Zelle mit Kerneinschuß wiedergegeben, wobei in der darunter gezeichneten Kurve die Absorptionswerte des durchfallenden Lichtes schematisch dargestellt sind. Die linke Begrenzung des Einschlusses (EK) fällt in unerm Schema steil ab und führt zu einer plötzlichen Änderung des Lichtabsorptionswertes. Hierdurch erscheint diese Grenze scharf, „membranartig“. Die rechte Begrenzung hingegen steigt allmählich an und läßt die Grenze „fließend“ und unscharf erscheinen. Hier gewinnt man im Lichtmikroskop den Eindruck eines fließenden Überganges der Einschußkörper in den Kern. Die wechselnden Begrenzungsverhältnisse sind also vielfach nur ein Produkt der Schnittführung bzw. der Form des Einschlusses.

Die Beobachtung, daß mitunter die Färbbarkeit der Einschlüsse von einer reinen Eosinophilie bis zu geringer *Basophilie* wechselt, kann teilweise an dem Schema der Abb. 9 erklärt werden. So würde der Einschuß in Abb. 9b rein eosinophil erscheinen, während der in Abb. 9a durch die Überlagerung der Kernsubstanz einen leicht basophilen Ton bekäme. Dieser kann je nach der Dicke des Kernsaumes stärker oder

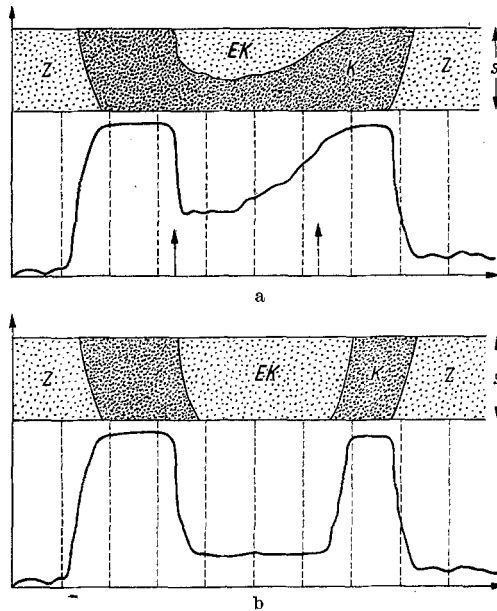


Abb. 9a u. b. Aufriß eines histologischen Schnittes von einer Zelle mit Einschlusskörper (EK) als Beispiel für den Einfluß der Schnittführung auf Farbe und Begrenzung der EK. Unter dem Schema sind die Kurven der Lichtabsorptionswerte gezeichnet. (Kern = K; Z = Cytoplasma; s = Schnittdicke). a Die linke Begrenzung (↑) des EK erscheint durch die plötzliche Änderung des Lichtabsorptionswertes scharf, „membranartig“, während die rechte (↑) bei lichtmikroskopischer Betrachtung fließend in den Kern überzugehen scheint. Durch den unter dem EK liegenden Kernsaum zeigt der an sich eosinophile EK eine leichte Basophilie, welche nach rechts zunimmt. b Derselbe EK wie in a, in einer anderen Ebene geschnitten. Er erscheint hier eosinophil, da er nicht von Kernsubstanz überlagert wird und zeigt im Lichtmikroskop beiderseits eine scharfe, „membranartige“ Begrenzung

schwächer sein. Enthält nun dieser Saum noch Chromatinansammlungen, welche in den Einschuß hineinprojiziert werden, so hat man bei lichtmikroskopischer Betrachtung den Eindruck, die Inklusionen würden dunkle Schollen besitzen, ähnlich wie es von FALLER¹⁰ bei intranucleären Einschlüssen beschrieben wird. Hinzu kommt noch, daß das Cytoplasma der Tumorzellen im allgemeinen basophiler ist als das der Leberzellen, was die stärkere Basophilie der Crocker-Einschlüsse erklärt. Eine weitere Möglichkeit für geringe Schwankungen in der Anfärbung ist durch die unterschiedliche Konzentration von Mitochondrien und an-

deren intensiv gefärbten Cytoplasmabestandteilen in den Einschlüssen gegeben. So wird beispielsweise ein Einschußkörper mit viel Ergastoplasma, das zu einem Teil Träger der Basophilie ist, dunkler erscheinen. Da wir also die Kerneinschlüsse in Leberzellen nach Colchicinvergiftung und in Crocker-Sarkomzellen für in den Kern eingestülpte Cytoplasmateile ansehen, fallen für dieses Vorkommnis alle die sonst für ähnliche Kerneinschlüsse diskutierten Deutungen weg, wie etwa die, daß es sich um ein Vorsekret oder nucleoläres Material im Kern vor der Ausschleusung (SCHILLER²⁰, ALTMANN²) oder um nicht diffusible schädigende Eiweißkörper (BERG⁵) im Kern handeln könnte. Daß sich dementsprechend in unserem Fall auch keine „Ausschleusung“ nachweisen ließ, versteht sich danach von selbst. Unsere Befunde lassen es notwendig erscheinen, die Bildung und Ausschleusung von Kerneinschlüssen im Sinne von ALTMANN, SCHILLER u. a. durch elektronenmikroskopische Untersuchungen zu untermauern.

Zusammenfassung

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von „intranucleären“ Einschlüssen in Leberzellen der Maus bei Colchicinvergiftung und bei nicht vorbehandelten Crocker-Asciteszellen zeigen, daß es sich hier um Cytoplasmateile handelt, die fast völlig von Kernsubstanz umschlossen sind und nur durch einen engeren oder weiteren Kanal mit dem übrigen Cytoplasma in Verbindung stehen. Sie sind durch eine Doppelmembran, welche der Kernmembran entspricht, vom Kern abgegrenzt. Die Einschlüsse enthalten Mitochondrien und Ergastoplasma, die in den Leberzellen bei Colchicineinwirkung pathologische Veränderungen erkennen lassen. Demgegenüber erscheinen die Cytoplasmastrukturen der Einschlüsse in den Crocker-Zellen vollkommen intakt. Der Mechanismus des Einschlusses von Cytoplasmaanteilen in den Kern wird diskutiert.

Literatur

¹ ALBERTINI, A. v.: Diskussionsbemerkung zu ²⁶. — ² ALTMANN, H. W.: Über die Abgabe von Kernstoffen in das Protoplasma der menschlichen Leberzelle. *Z. Naturforsch.* **46**, 138—144 (1949). — ³ ALTMANN, H. W.: Zur Morphologie der Wechselwirkung von Kern und Cytoplasma. *Verh. der Ges. Dtsch. Naturforscher u. Ärzte, Freiburg* 1954. — ⁴ BENNINGHOFF, A.: Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung. *Anat. Nachr.* **1**, 50—52 (1950). — ⁵ BERG, W.: Über Fett- und Pigmenteinschlüsse in den Leberzellkernen des Menschen. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **38**, 644—659 (1935). — ⁶ BERNHARD, W., A. BAUER, A. GROPP, F. HAGUENAU et CH. OBERLING: L'ultrastructure du nucléole de cellules normales et cancéreuses. *Exp. Cell. Res.* **9**, 88—100 (1955). — ⁷ BUCHMANN, H.: Intranucleäre Einschußkörper nach Colchicin. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **92**, 328—331 (1954). — ⁸ COWDRY, E. V.: The problem of intranuclear inclusions in virus diseases. *Arch. Path. (Chicago)* **18**, 527—542 (1934). — ⁹ EULIG, H. G., u. W. MOND: Der Einfluß der Fixierung auf das Kernvolumen. *Z. wiss. Mikr.* **61**, 201 (1953). — ¹⁰ FALLER, A.:

Über den mikroskopisch nachweisbaren Austritt von Kernstoffen in das Zellplasma der Epithelzellen des Ductus epididymis des Menschen. *Z. Zellforsch.* **33**, 289 (1944).
¹¹ HAMPERL, H.: Über chronische Colchicinwirkung. *Klinik u. Praxis* **1**, 186 (1946).
¹² HAREL, J.: A propos de l'action sur le foie des injections intrapéritonéales d'or radioactif colloïdal (Au 198) chez le rat. *Bull. Canc.* **40**, 68—77 (1953). — ¹³ HETT, J.: Weitere Befunde über den Austritt von Kernsubstanzen in das Protoplasma. *Z. Zellforsch.* **26**, 473 (1937). — ¹⁴ KLEINFELD, R., and M. A. LESSLER: Progressive intracellular changes induced in rat liver by thioacetamide administration. *Amer. J. Physiol.* **179**, 651 (1955). — ¹⁵ KLEINFELD, R., and M. H. GREIDER: Electron microscopy of intranuclear inclusions found in human and rat liver parenchymal cells. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 435—439 (1956), Suppl. — ¹⁶ LAMBERS, K.: Über Organveränderungen bei chronischer Colchicinvergiftung. *Virchows Arch. path. Anat.* **321**, 88 (1951). — ¹⁷ MEYER, R.: Das Verhalten mehrerer nucleolärer Blasen im Kernstoffwechsel der Pinealzellen des Menschen und die Entstehung der Kernfalten. *Z. Zellforsch.* **25**, 173—180 (1937). — ¹⁸ PALADE, G. E.: A small particulate component of the cytoplasm. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 59—68 (1955). — ¹⁹ RATHER, L. J.: Experimental alteration of nuclear and cytoplasmic components of the liver cell with thioacetamid. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **88**, 38 bis 57 (1951). — ²⁰ SCHILLER, E.: Über die Bedeutung von Kerneinschlüssen. *Dtsch. med. Wschr.* **1948**, 573. — ²¹ SCHULZ, H.: Über den Gestaltwandel der Mitochondrien im Alveolarepithel unter CO₂- und O₂-Atmung. *Naturwissenschaften* **9**, 205—206 (1956). — ²² WESSEL, W., u. W. BERNHARD: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchung von Yoshida- und Ehrlich-Ascitestumorzellen. *Z. Krebsforsch.* **62**, 140—162 (1950). — ²³ WESSEL, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchung von Kerneinschlüssen in Leberzellen der Maus. Vortrag, gehalten auf der 41. Tagg der Dtsch. Ges. für Pathol. am 10. April 1957 in Bad Nauheim. — ²⁴ WILSON, W.: Nuclear inclusions in the mouse liver. *Anat. Rec.* **118**, 368 (1954). — ²⁵ WOLMAN, M.: The nature of viral inclusion bodies and their differentiation from non-viral inclusions. *Experientia (Basel)* **11**, 22 (1955). — ²⁶ ZOLLINGER, H. U.: Durch chronische Bleivergiftung erzeugte Nierenadenome und -carcinome bei Ratten und die entsprechenden Neubildungen des Menschen. *Virchows Arch. path. Anat.* **323**, 694—710 (1953). — ²⁷ ZOLLINGER, H. U.: Beitrag zur Pathogenese der Einschlusskörper. *Schweiz. Z. allg. Path.* **14**, 446 (1951).

Dr. W. WESSEL, Pathologisches Institut der Universität,
 Bonn a. Rh.-Venusberg