

Über das Karyogramm der menschlichen Leber unter normalen und pathologischen Bedingungen

H.-W. ALTMANN, K. LOESCHKE und K. SCHENCK

Pathologisches Institut der Universität Würzburg
(Direktor: Prof. Dr. H.-W. ALTMANN)

Eingegangen am 19. Januar 1966

Schon bald nach der volumetrisch begründeten Entdeckung vom „rhythmischen Wachstum der Zellkerne durch Verdoppelung ihres Volumens“, die JACOB (1925) gelungen ist, wurden auch in der menschlichen Leber Kerne verschiedener Größenklassen aufgefunden (CLARA, 1930; JACOB, 1931, 1935). Ebenso konnten DNS-Messungen auch an diesem Objekte die Regel bestätigen, daß solchen sprunghaften Volumenverdoppelungen eine entsprechende Vermehrung des Chromosomenmaterials, also eine Polyploidie, zugrunde liegt (LEUCHTENBERGER, LEUCHTENBERGER und DAVIS, 1954; SWARTZ, 1956; CAVALLI, 1960). Des weiteren ist bekannt geworden, daß sich Kerne höherer — mehr als diploider — Größenklassen erst bei erwachsenen Menschen reichlicher finden (CLARA, 1930; JACOB, 1931, 1935; SWARTZ, 1956) und daß sie mit dem Lebensalter an Zahl zuzunehmen pflegen (ANDREW, BROWN und JOHNSON, 1943; ASHWORTH und REID, 1947). Genauere Untersuchungen über die Entwicklung des Karyogramms (BUCHER, 1958) der menschlichen Leber und über seine Altersabhängigkeit hat aber bisher einzig SWARTZ (1956) vorgenommen, und zwar an 37 normalen Lebern des Sektionsgutes (2 Wochen bis 90 Jahre), bei denen er gleichzeitig das Volumen und den DNS-Gehalt von jeweils 30 Kernen bestimmt hat. Schon deshalb schien uns eine Nachprüfung der vorliegenden Verhältnisse an Hand eines größeren Zahlenmaterials wünschenswert.

Der eigentliche Anlaß aber war die Tatsache, daß sich unter den zur Beurteilung übersandten Leberpunktaten immer wieder Zylinder finden, die, ohne sonst irgendwelche Veränderungen zu zeigen, durch eine auffällige Zahl großer Kerne ausgezeichnet sind. Ist das womöglich ein Hinweis auf irgendwelche pathologischen Vorgänge, seien sie nun abgelaufen oder unterschwellig fortschwellend? Die Antwort auf solche Frage hat aber zur Voraussetzung, daß man das der jeweiligen Altersstufe entsprechende Karyogramm genauer kennt und daß man die Bedingungen ermittelt, unter denen es zu Abweichungen von der jeweiligen Altersnorm kommen kann. Wir haben daher zunächst völlig normal erscheinende Leberpunktate verschiedener Altersstufen karyometrisch untersucht und anschließend an einigen wenigen Beispielen geprüft, wie sich das Karyogramm unter sicher pathologischen Verhältnissen zu verändern vermag. Die so gewonnenen Ergebnisse sind in einer Dissertation (LOESCHKE, 1963) niedergelegt und ausführlich diskutiert. Da sich das dazu verwandte Punktionsmaterial aber auf die Lebern von Erwachsenen beschränkte, bei denen Kerne höherer Größenklassen immer schon vorhanden waren, schien es uns unerlässlich, wenigstens die Beobachtungen über das normale Karyogramm auf die früheren Jahre

bis zur Geburt hin auszudehnen. Wir waren dabei freilich gezwungen, da uns aus dieser Zeitspanne keine normalen Punktionszylinder zur Verfügung standen, zu Sektionsmaterial zu greifen, das zwar, wegen der Möglichkeit agonaler und postmortaler Einflüsse, mit manchen Fehlerquellen behaftet ist, aber bei vorsichtiger Auswahl und scharfer Kritik doch zumindest über das Fehlen oder Vorkommen verschiedener Ploidiestufen verlässliche Vergleichswerte zu liefern vermag.

Aufs ganze gesehen, dürften die hier zusammengefaßten Ergebnisse jedenfalls die Entwicklung und die Wandlung des Karyogrammes der menschlichen Leber einigermaßen widerspiegeln. Vielleicht, daß sie dadurch auch dazu beitragen können, Abweichungen von der Regel als solche zu erkennen, deren Deutung zu fördern und ein bisher wenig beachtetes Phänomen diagnostisch auszuwerten.

Material und Methodik

Untersucht wurden 60 Leberpräparate, 32 davon aus dem Sektionsgut, 28 aus dem Einsendungsmaterial, das meist durch Punktion, vereinzelt durch Excision gewonnen worden war. Fixation in 10% Formalin, standardisierte Einbettung über Methylbenzoat in Paraffin. Schnittdicke 5–6 μ , Kernmessungen und Zählungen nach HE-Färbung.

Unter den 60 Lebern waren 49 (25 ♂♂, 24 ♀♀) histologisch ohne Zeichen einer Lebererkrankung, 11 pathologisch verändert. Altersverteilung der Normallebern: Totgeburt = 1, Unreifgeburten vom 1.–10. Lebenstag (geringstes Geburtsgewicht 360 g) = 10, Reifgeburten und Kleinkinder bis zu 1 Jahr = 15, 2.–9. Lebensjahr = 3, 10.–19. Lebensjahr = 4; jede folgende Lebensdekade bis zum 69. Jahre = 3, über 70 Lebensjahre (76) = 1.

Alle Präparate der ersten beiden Lebensjahrzehnte entstammen mit einer Ausnahme (17 Jahre ♂) dem Sektionsgut.

Das pathologische Beobachtungsgut, stets durch Biopsie gewonnen, enthält floride Hepatitiden (4), Zustände nach Hepatitis (4) und Lebercirrhosen (3). Unter den posthepatitischen Zuständen sind zwei durch ein (4 Wochen bzw. 4 Monate) vorausgegangenes, in der Hepatitis-Gruppe enthaltenes Punktat histologisch als solche gesichert. Hier liegt also eine Verlaufsbeobachtung vor. Die beiden anderen stützen sich auf die Anamnese (Hepatitis vor 10 bzw. 18 Monaten) im Verein mit dem morphologischen Befund einer leichten Restfibrose und einer gewissen Kernunruhe.

Die Auswahl der gemessenen und gezählten Kerne erfolgte nach den von JACOB \ddot{U} , 1925; PFUHL, 1930; GRUNDMANN und BACH, 1960 gegebenen Richtlinien, wobei vor allem Anschnitte ausgeschlossen wurden. Kerne von Zellen, die bei der gewählten Schnittdicke als binucleär erkennbar waren, wurden zwar gemessen, aber getrennt notiert und bei den Häufigkeitskurven der Kerngrößenverteilungen nicht verwertet.

Die Kernmessungen wurden mit dem von CASPERSSON, FREDERIKSSON und THORSCH (1935) entwickelten Mikroplanimeter durchgeführt. In je zwei läppchenperipheren und läppchenzentralen Arealen wurden bei den „normalen“ Präparaten je 50 Kerne, bei den „pathologischen“ je 100 Kerne gemessen. Die Gesamtzahl pro Fall betrug also 200 bzw. 400. Bei den Lebercirrhosen war ein solches Vorgehen wegen des Umbaus nicht möglich — hier wurden statt dessen zusammenhängende Kernfelder mit möglichst vielen Großkernen solchen mit möglichst wenigen gegenübergestellt.

Der graphischen Darstellung der Meßwerte wurde in üblicher Weise eine Gliederung in Kernklassen (K_1 , K_2 , K_3) zugrunde gelegt, welche den jeweiligen Ploidiestufen entsprechen. Die Klassenmittel werden dabei über der Abszisse in logarithmischer Progression aufgetragen, wodurch die Schrittfolge der Klassen gleichabständig wird. Nach Bestimmung des Mittelwertes der Regelklasse ($K_1 = 2n$) wird die nächsthöhere Klassenmitte durch Addition von $\log 1,5875$ gewonnen. Dabei haben wir den Mittelwert der Regelklasse durch Berechnung des arithmetischen Mittels der in den vermuteten Klassenbereich fallenden Flächeneinzelwerte in jedem Falle gesondert bestimmt, um allenfalls vorhandene präparativ bedingte Schwankungen auszugleichen. Da der Regelklasse in nicht geschädigten und nicht proliferierenden Lebern ein wohlabgegrenztes Kollektiv entspricht, birgt dies Vorgehen bei histo-

logisch normalem Gewebe keine wesentlichen Fehlerquellen; in pathologischen Fällen, vor allem bei Hepatitis, in denen eine klare Volumenrhythmik nicht zu erkennen ist, haftet einer solchen Festlegung des Kollektivs der Regelklasse freilich eine gewisse Willkürlichkeit an. Wir haben jedoch aus Vergleichsgründen auch hier das beschriebene Verfahren angewandt.

Auch die Einschaltung von Zwischenklassen (Z_1, Z_2, Z_3 , Klassenumfang $\frac{1}{4} \log 1,5875$) wurde — im wesentlichen aus graphischen Gesichtspunkten — beibehalten, obwohl es in unserem Material vor allem die unterschiedliche Streubreite der Regelklasse unwahrscheinlich macht, daß diesen Zwischenbereichen wirklich ein eigener Wert zuzuerkennen ist.

Die Häufigkeitskurven wurden in allen Fällen für zentral und peripher gemessene Werte gemeinsam aufgestellt („Summenkurven“). Bei deutlicher Diskrepanz zwischen zentraler und peripherer mittlerer Kerngröße wurden getrennte Kurven mit gesondert berechneten Mittelwerten für beide Areale angefertigt.

Da die lediglich in vier Läppchenarealen gewonnenen Meßwerte nicht für die Verhältnisse eines ganzen Präparates repräsentativ sein können und zudem die Zahl von 200 bzw. 400 Kernen nur einen ungefähren Aufschluß über den prozentualen Anteil einer Zellart zu geben vermag, wurden *Kernzählungen* angeschlossen. Bei Präparaten, die eine klare Volumenrhythmik im Sinne des Verdoppelungswachstums aufwiesen, wurden ohne Rücksicht auf die Läppchenzonen in zusammenhängenden Arealen 2000 oder, bei erheblicher Differenz zwischen dem 1. und 2. Tausend, 3000 Zellen ausgezählt. Hierbei wurde der Prozentsatz der Tetraploiden und „mehr als Tetraploiden“ bestimmt, darüber hinaus die Mitoserate und die Rate der Doppelkernigen festgestellt. Bei den Präparaten kindlicher und jugendlicher Lebern mußte eine größere Anzahl von Kernen ausgezählt werden, da hier ein tetraploider Gipfel bei den planimetrisch gewonnenen Ergebnissen entweder gar nicht in Erscheinung trat oder nur angedeutet war. Wir zählten hier ca. 10000 Kerne aus, wobei zunächst in 50 — bei großer Schwankungsbreite der Kernzahl in 70 — Gesichtsfeldern die durchschnittliche Kernzahl festgestellt und anschließend nur die Anzahl von vermutlich Tetraploiden (bzw. von Doppelkernigen und Mitosen) in dem einzelnen Gesichtsfeld registriert wurde. Bei den Hepatitis-Fällen mußten wir uns auf Grund des nicht klar ausgebildeten Verdoppelungsrhythmus mit der Feststellung des prozentualen Anteils der Doppelkernigen sowie der Mitoserate begnügen. Eine Auszählung der Präparate mit Lebercirrhose unterblieb. Selbstverständlich stellen die so ermittelten Prozentzahlen nur relative Werte dar, die nur für die gewählte Schnittdicke (5–6 μ) gelten. Dabei werden etwa nur ein Drittel der wirklich vorhandenen doppelkernigen Zellen erfaßt (FRUHL, 1930; BOEHM, 1931; MÜLLER, 1937). Und auch Großkerne mußten in dickeren Schnitten häufiger sein, da hier die Anzahl von Anschnitten kleiner ist.

Ergebnisse

I. Histologisch normale Lebern

Da die Untersuchung an einem relativ umfangreichen Material vorgenommen wurde und die Altersentwicklung des Karyogramms mit einer Auswahl beispielhafter Präparate recht gut darzustellen ist, haben wir darauf verzichtet, das gesamte Material in Form von Häufigkeitskurven vorzulegen. In den von uns wiedergegebenen Kurven sind die Kernflächen über logarithmisch geteilter Abzisse eingezeichnet (Abb. 1). Der kleinste gemessene Flächenwert beträgt 13 μ^2 , der größte 122 μ^2 . Zwischen diesen beiden Extremen kommt es bei allen Präparaten zu klar abgegrenzten Gipfelbildungen. Ein erster Gipfel wird von einem sehr umfangreichen Kollektiv gebildet, das um Mittelwerte von 26,7–44,0 μ^2 (im Durchschnitt von 35,7 μ^2) streut und der diploiden Regelklasse entspricht.

Daneben wird im Laufe des Lebens ein zweiter Gipfel erkennbar, der in unserem Material mit dem 13. Lebensjahr zum ersten Male deutlich in Erscheinung tritt, vom 40. Lebensjahr an konstant vorhanden ist und weiterhin an Umfang zunimmt. Er setzt sich aus Kernen tetraploider Größenordnung zusammen. Ein oktoploider Gipfel (K_3) zeichnet sich in der Regel erst jenseits des 50. Lebensjahres ab.

Die Tabelle gibt das Ergebnis der diesen Aussagen zugrunde liegenden Kernzählungen wieder. Sie läßt darüber hinaus erkennen, daß sich der Anteil der 2. Kernklasse, der die Tetraploiden enthält, bis zum 40. Lebensjahr in einer Größenordnung von 2—5% bewegt und danach auf maximal 18% (um das

Tabelle. *Ergebnis der Kernzählungen*

Präparat	Alter	Tetraploide %	Mehr als Tetraploide %	Doppel- kernige %
237/60	reife Totgeburt	0,32	—	1,09
39/60	reif 1. Tag	0,33	—	2,16
756/60	reif 1. Tag	0,18	—	1,48
732/60	unreif 17. Tag	0,68	—	2,55
554/60	unreif 10 Wochen	0,5	—	1,68
626/60	11 Wochen	0,4	—	1,19
597/60	4 Monate	0,28	—	1,11
306/60	4 Monate	0,6	—	4,46
140/61	6 Monate	0,77	—	1,78
393/60	8 Monate	0,41	—	1,28
460/60	12 Monate	0,35	—	0,58
309/60	18 Monate	0,24	—	1,09
528/60	4 Jahre	0,2	—	0,52
389/60	7 Jahre	0,66	—	2,48
571/61	13 Jahre	3,19	—	1,5
150/60	14 Jahre	2,48	—	2,2
107/60	15 Jahre	2,44	—	1,38
8181/61	17 Jahre	2,8	0,1	19,8
2286/60	24 Jahre	5,1	0,1	29,3
9076/61	26 Jahre	4,0	0,1	15,0
1472/61	27 Jahre	2,1	0,2	13,8
11470/60	33 Jahre	4,0	0,1	17,0
10065/60	36 Jahre	2,3	—	14,0
9591/60	36 Jahre	4,7	0,6	20,4
4085/61	43 Jahre	9,0	0,5	10,1
7618/60	45 Jahre	8,1	0,6	29,1
5826/60	47 Jahre	11,3	0,6	21,8
1095/61	55 Jahre	12,0	0,4	17,8
1946/61	55 Jahre	12,1	1,7	18,8
6158/60	57 Jahre	10,5	0,9	19,1
10795/60	61 Jahre	18,2	3,3	11,6
9247/61	62 Jahre	10,8	1,4	25,7
3933/61	65 Jahre	7,2	0,7	17,7
1880/61	76 Jahre	13,0	0,9	14,1

60. Lebensjahr) ansteigt. Auch der Anteil der „mehr als tetraploiden“ Kerne nimmt mit dem Alter zu. Hier zeichnet sich ein markanter Anstieg zwischen 50 und 60 Jahren ab (Maximum von 3,3% bei einem 61jährigen Mann). Danach scheint eine rückläufige Tendenz deutlich zu werden, für die wir bei den tetraploiden Formen freilich keine rechten Anzeichen finden konnten. Ebenso wie die polyploiden Exemplare zeigen auch die doppelkernigen Elemente eine deutliche Zunahme mit fortschreitendem Alter. Ihr Anteil liegt bis zum 15. Lebensjahr zwischen 0,52% und rund 4,5%. Bei dem 17jährigen Manne sind sie

bereits mit 19,8% vertreten — danach schwanken sie zwischen 11,6% und 29,3%. Eine rückläufige Tendenz zeichnet sich nicht ab.

Konstante oder für bestimmte Altersstufen kennzeichnende Differenzen zwischen Läppchenzentrum und Läppchenperipherie hinsichtlich des Anteiles mehr als diploider Kerne oder hinsichtlich des jeweiligen Klassenwertes konnten von uns nicht sichergestellt werden. Allerdings fanden wir in der Altersspanne von 1—15 Jahren 10 (von 17) Fälle und in dem restlichen Material 4 (von 17) Lebern, in denen — mit einem Gegenbeispiel — die Kerne der Läppchenperipherie jeweils einen (maximal um $9,4 \mu^2$) höheren Mittelwert erreichten. Hingegen fiel bei den älteren Individuen ein häufigeres Auftreten von intranuclearen Plasmainklusiven auf, das, wie BOECKER (1964) an menschlichem Material in guter Übereinstimmung mit Untersuchungen von ANDREW, BROWN und JOHNSON (1943) sowie von ASHWORTH und REID (1947), bereits gezeigt hat, neben den geschilderten Veränderungen des Kernmusters als ein zweites relativ verlässliches Alterskriterium gelten kann.

Umgekehrt zeigen die Lebern des frühen Kindesalters, und ganz besonders die der unreifen Frühgeburten, eine breitere Streuung der — hier allein vorhandenen — Regelklasse. Das ist der Grund dafür, daß deren Gipfelhöhe in dieser Lebensspanne relativ gering ist, während eine gleichsinnige Abnahme im Erwachsenenalter auf eine zahlenmäßige Reduktion zugunsten der inzwischen aufgetretenen höherploiden Kerne bezogen werden muß. In den erwähnten Schwankungen der Volumenwerte äußert sich also, sonst normale Verhältnisse vorausgesetzt, eine gewisse Unreife des Organes. Des weiteren stellt vielleicht auch der Mittelwert, um den die Regelklasse streut, ein Merkmal dar, an welchem sich eine altersabhängige Entwicklung ablesen läßt. Denn während wir vom 20. Lebensjahre an, mit einer einzigen Ausnahme, Mittelwerte zwischen $34,6 \mu^2$ und $44,0 \mu^2$ fanden, weist etwa die Hälfte des frühkindlichen Materials Werte auf, die (mit $26,7$ — $34,5 \mu^2$) weit unter diesem Bereiche liegen. Auch wenn die Eigenart des Untersuchungsmateriales — Autopsien hier, Biopsien dort — als ein bestimmender Faktor mitberücksichtigt werden muß, spricht die Größe der Spanne doch für eine vorgegebene Differenz. In gleiche Richtung weist auch die Tatsache, daß wir gerade in der Altersstufe bis zu einem Jahre auffällig viele sehr kleine Kerne angetroffen haben (Minimalwert $13 \mu^2$), die durch eine erhebliche Chromatindichte ausgezeichnet sind.

II. Pathologisch veränderte Lebern

A. Hepatitis epidemica. Bei den vier untersuchten Präparaten (35, 37, 39 und 51 Jahre) treffen wir Verhältnisse an, die eine gewisse Ähnlichkeit mit denen bei Neugeborenen und Kleinkindern aufweisen (Abb. 2). Die Kurven sind sämtlich mehr oder weniger eingipflig und zeigen eine, die Altersnorm weit übertreffende Streubreite. Ein auffallend niedriges zweites (tetraploides) Maximum ist von dem breitbasigen Hauptkollektiv entweder nur wenig abgesetzt (Abb. 2a, b) oder in dieses völlig einbezogen (Abb. 2c), so daß eine eingipflige Kurve resultiert. Ein dritter (oktoploider) Gipfel ist meist nicht ausgeprägt. Die Flächenmittelwerte liegen bei zwei Punktaten — mit auch rein morphologisch deutlich geschwollenen und aufgehellten Kernen — beträchtlich oberhalb ($45,9$ bzw. $43,1 \mu^2$) und bei zweien etwas unterhalb ($32,4$ bzw. $34,1 \mu^2$) des für normale Lebern des

Erwachsenenalters ermittelten größten Häufigkeitsbereiches von $34,6\text{--}38,2\mu^2$. Bei zwei Präparaten bestanden deutliche Mittelwertsdifferenzen zwischen Läppchen-

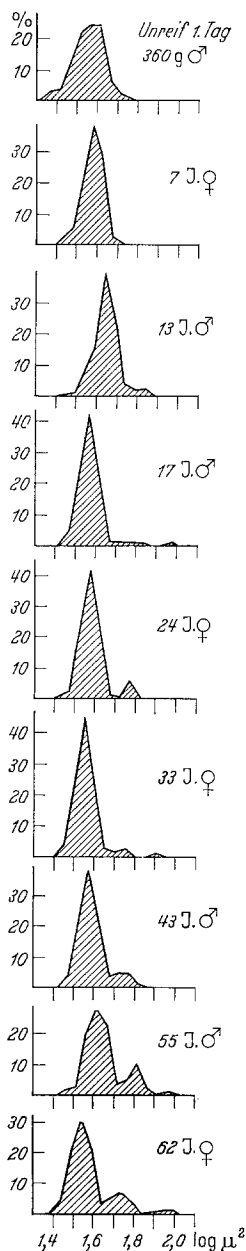


Abb. 1. Karyogramm der menschlichen Leber auf verschiedenen Altersstufen

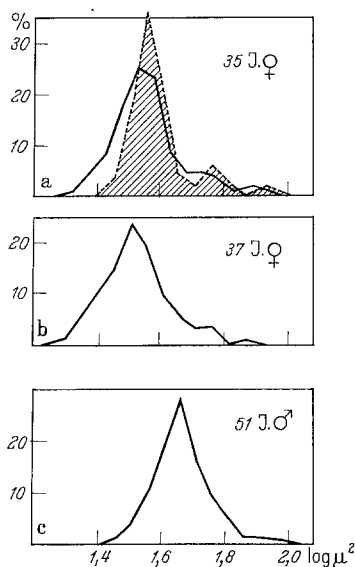


Abb. 2a—c. Karyogramm während und nach epidemischer Hepatitis. Verbreiterung der Kurve unter Verwischung des 2. Gipfels in den akuten Stadien; Restitution der regelhaften zweigipfligen Kurve nach dem Ende der Erkrankung mit Erhöhung des 2. — tetraploiden — Gipfels (a)

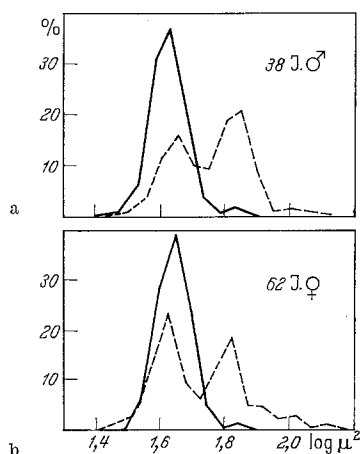


Abb. 3a u. b. Karyogramm von zwei Lebercirrhosen, aufgegliedert in klein- und großkernige Areale

zentrum und Läppchenperipherie. In einem von ihnen schien dabei das Läppchenzentrum noch am ehesten die altersentsprechenden Normverhältnisse widerzuspiegeln, weil hier ein zweiter Gipfel recht deutlich in Erscheinung trat, wäh-

rend die läppchenperiphere Kurve nach rechts verschoben war und einen zweiten Gipfel vollständig vermissen ließ.

In allen Präparaten waren Mitosen nachzuweisen. Der Metaphase-Index lag zwischen 0,1—0,7%. Die Zahl der binucleären Zellen schwankt in weiten Grenzen (7,4—30,2%).

B. Zustand nach Hepatitis. In allen vier Fällen (Alter 22—37 Jahre) zeigte das Hauptkollektiv wieder eine altersentsprechende normale Streubreite (vgl. Abb. 2a). Eine Rechtsverschiebung der Mittelwerte (36,4, 39,7, 36,4, 36,4 μ^2) ist nicht mehr festzustellen. Auch der zweite Gipfel setzt sich in typischer Weise von dem hohen, schmalbasigen Hauptkollektiv ab. Im Vergleich mit den histologisch normalen Leberpräparaten fällt jedoch eine deutliche, die Altersnorm überschreitende Zunahme der in diesem Gipfel vereinigten tetraploiden Großkerne auf, was sich bei der Auszählung bestätigt. Denn wir fanden (statt der Altersnorm von 2—5%) 18,8, 12,8, 7,9 und 6,1%. Das gleiche gilt in zwei Fällen für die Rate der mehr als tetraploiden Kerne (Altersnorm 0,6%, angetroffene Werte 1,2, 2,2%). Mitosen sind nicht mehr zu beobachten. Drei Präparate wiesen eine zentral-periphere Differenz auf, wobei wiederum in der Läppchenperipherie innerhalb der verschiedenen Klassen größere Kerne angetroffen wurden, so daß von einer relativen Rechtsverschiebung der Läppchenperipherie gesprochen werden kann. Demgegenüber überwog die Anzahl der tetraploiden Kerne in zwei Fällen im läppchenzentralen Bereich.

C. Lebercirrhose. Bei den Präparaten mit Lebercirrhose (Abb. 3) wurde zwischen Arealen mit Vorherrschen kleinkerniger Zellen und solchen mit möglichst vielen großkernigen differenziert. Histologisch fanden sich die ersteren vornehmlich in rundlichen, bindegewebsumzogenen Inseln, die zweiten, meist herdförmig, in der Nachbarschaft großer entzündlich infiltrierter, von sog. Gallengangsprossen durchsetzter, unscharf begrenzter Bindegewebsfelder, außerdem in Verfettungszonen oder zwischen atrophischen, absterbenden und nekrotischen Zellen.

Die Häufigkeitskurven der kleinkernigen Gebiete gleichen weitgehend denjenigen aus Lebern junger, normaler Erwachsener: Die Hauptklasse bildet einen schmalen hohen, gegenüber der Norm leicht rechtsverschobenen Gipfel, einige polyploide Kerne sind vorhanden. In den Großkernarealen, in denen die Mittelwerte der Regelklasse in zwei Fällen höher, in einem Fall niedriger als die der kleinkernigen Knoten, ist die Gliederung in Klassen gut erhalten. Auffällig ist der ungewöhnliche Umfang des tetraploiden Kollektivs, dessen Gipfelhöhe in einem Falle den der Regelklasse übertrifft (Abb. 3a). Hier scheint auch eine überdurchschnittliche Streubreite beider Kollektive vorzuliegen, was sich in einer wenig markanten Trennung zu erkennen gibt. Zahlreichere Kerne einer oktoploiden Größenordnung waren nur in einem der untersuchten Präparate zu finden (Abb. 3b); es ist aber keine Frage, daß sie in anderen Fällen das Bild weit stärker beherrschen können.

Erörterung

I. Das normale Karyogramm

Aus unseren messenden und zählenden Untersuchungen ergibt sich für das Karyogramm der normalen menschlichen Leber das Folgende: Bis zur Pubertät setzt sich das Leberparenchym nahezu ausschließlich aus Kernen der diploiden

Regelklasse zusammen. Tetraploide Kerne werden nur ganz vereinzelt angetroffen und erreichen nicht einmal die 1%-Grenze. Etwa von der Pubertät — in unserem Material vom 13. bzw. 14. Lebensjahr — bis etwa zum 40. Lebensjahr ist das Kollektiv der tetraploiden Kerne wohl abgegrenzt und deutlich ausgebildet, erreicht jedoch nur einen vergleichsweise geringen Umfang (5,1% maximal bei Auszählung). Vom 5.—8. Lebensjahrzehnt stellen die tetra- und oktoploiden Kerne zusammen mehr als 10% der Gesamtkernzahl (maximal 21,5% bei Auszählung). Eine rückläufige Tendenz der Großkernentwicklung im Greisenalter ist an unserem Material, zumindest für das Kollektiv der „mehr als tetraploiden Zellen“, nachweisbar. Jedoch reicht die Zahl der Fälle nicht aus, um daraus eine Gesetzmäßigkeit abzuleiten. Zu diesem Bild passen die Ergebnisse recht gut, die SWARTZ an einem zahlenmäßig geringeren Sektionsmaterial gewonnen hat: Bis zum Alter von 6 Jahren war die Zellpopulation rein diploid, zwischen 6 und 10 Jahren traten die ersten tetraploiden Zellen auf, doch konnte von einem abgegrenzten Kollektiv erst vom 11.—14. Lebensjahr an die Rede sein. Seine volle Ausbildung erlangte dies Kollektiv mit dem 20. Lebensjahr. Danach traten oktoploide Kerne hinzu, deren Anteil vom 50. Lebensjahr an quantitativ als konstant beschrieben wird.

Demnach können also fünf Dinge als gesichert gelten: 1. das absolute Vorherrschen der diploiden Regelklasse während der juvenilen Wachstumsphase, 2. das Hervortreten tetraploider Formen gegen deren Ende, 3. ihre zahlenmäßige Konstanz bis etwa zum 50. Lebensjahr, also während der Zeit, in der nach den Untersuchungen von BOYD (BOYD, 1933) auch das (relative) Organgewicht das gleiche bleibt, 4. eine neuerliche Zunahme solcher Kernformen nach diesem Zeitpunkt und 5. eine gleichzeitig einsetzende Zunahme höher ploider Kerne, worauf, als charakteristische Altersveränderung, schon verschiedentlich hingewiesen worden ist (z.B. ANDREW, BROWN und JOHNSON, 1943; ASHWORTH und REID, 1947; CARR, SMITH und KEIL, 1960; BOECKER, 1964).

Daß sich in diesem Ablauf eine allgemeine Gesetzmäßigkeit offenbart, beweist die Tatsache, daß bei den kleinen Nagern prinzipiell die gleichen Bewegungen des hepatocellulären Karyogrammes deutlich werden (vgl. JACOBJ, 1925; McKELLAR, 1949; SISS und STEGMANN, 1950; HELWEG-LARSEN, 1952; NAORA, 1957; INAMDAR, 1958; ALFERT und GESCHWIND, 1958). Freilich liegen die Dinge bei ihnen insofern etwas anders, als hier die tetraploide Kernform die Regelklasse darstellt. Aber Vertreter der nächsthöheren Kernklassen, die in diesem Punkte den tetraploiden der menschlichen Leber entsprechen, treten auch hier erst gegen Ende des Leberwachstums deutlich hervor. Erst dann wird, bei Nagern und Mensch, das für den erwachsenen Organismus charakteristische Verteilungsmuster der verschiedenen Kernklassen, das „organspezifische Kernmuster“, erreicht. Da der Leber von Maus und Ratte aber eine andere, und zwar eine höhere Regelklasse eigen ist, wird verständlich, daß hier — kurz nach der Geburt — eine beim Menschen fehlende Änderung des Kernmusters eingeschaltet ist: Am 1. Lebenstage sind auch hier alle Kerne diploid — erst nach 2 bzw. 3 Wochen sind die tetraploiden Regelkerne in einem höheren Prozentsatz (21%) vorhanden (INAMDAR, 1958; POST, HUANG und HOFFMANN, 1961; vgl. NAORA, 1957), der freilich immer noch beträchtlich unter dem der voll ausgewachsenen Tiere liegt.

Bemerkenswerterweise ergeben sich nach unseren Zählungen für die doppelkernigen Zellen der menschlichen Leber ganz ähnliche Verhältnisse wie für die tetraploiden Großkerne (MÜNZER, 1923; BOEHM, 1931; vgl. MÜLLER, 1937; INAMDAR, 1958). Auch sie sind in der Phase des Organwachstums nur in relativ geringer Menge (bis 4,46%) vertreten, während ihre Zahl vom 17. Lebensjahr an erheblich (bis 29,3%) ansteigt. Die Zuwachsrate liegt also in der gleichen Größenordnung wie diejenige der polyploiden Kerne. Freilich ist zu bedenken, daß unsere Methode nur relative und keine absoluten Werte liefert, haben wir doch die Korrektur der gefundenen Werte nach der Pfuhschen Formel (PFUHL, 1930; BOEHM, 1931; MÜLLER, 1937), welche die Schnittdicke berücksichtigt, nicht durchgeführt.

Groß- und zweikernige Leberzellen treten also beim Menschen gemeinsam gegen Ende der Wachstumsphase stärker in den Vordergrund, zu dem Zeitpunkt etwa, an dem die von BOYD (1933) ermittelte Gewichtskurve von einem steilen Anstieg in das für die Lebenshöhe charakteristische Plateau übergeht. Mithin muß ihr Auftreten etwas mit dem Nachlassen der mitotischen Zellvermehrung an diesem Organ zu tun haben. Diese Feststellung kann als allgemein anerkannt gelten. Strittig ist jedoch die Frage, auf welche Weise die groß- und zweikernigen Zellformen, die bei der Umschaltung des Vermehrungswachstums auf das Ersatzwachstum auftreten, zustande kommen. Zwei Ansichten stehen sich dabei gegenüber: Die eine denkt an eine endomitotische Polyploidisierung, an eine Verdoppelung der Chromosomenmasse mit anschließender Aufteilung auf zwei Tochterchromosomen innerhalb des membranumzogenen Ruhekerne — und führt die Existenz von Doppelkernen sinngemäß auf eine amitotische Kerndurchschnürung zurück (z. B. JACOB, 1925; CLARA, 1930, 1931; BIESELE, POYNER und PAINTER, 1942; SWARTZ, 1956; NAORA, 1957; GRUNDMANN und BACH, 1960). Die andere nimmt Störungen im Ablauf der Karyokinese dafür in Anspruch, mag nun allein die Zellteilung unterbleiben oder darüber hinaus der achromatische Verteilungsapparat funktionell oder gar morphologisch beeinträchtigt werden, und sieht demnach die zweikernigen Elemente als Resultat einer unvollständigen Mitose und die Großkerne als Folge von Verschmelzungsvorgängen an. Die Großkerne werden dabei entweder nur aus Mitosen zweikerniger Zellformen abgeleitet — Einordnung der beiden Chromosomengruppen in eine gemeinsame bipolare Spindelfigur mit nachfolgender Zellteilung (BEAMS und KING, 1942; SULKIN, 1943; HIMES u. Mitarb., 1957; INAMDAR, 1958) — oder es wird, allein oder zusätzlich, die Entwicklung aus einkernigen Formen vertreten, sei es, daß bereits die nur wenig auseinandergewichenen Chromosomen einen einheitlichen Restitutionskern bilden (WILSON und LEDUC, 1948, 1950), sei es, daß die beiden in einem Zelleib verbleibenden Tochterkerne früher oder später miteinander konfluieren (PFUHL, 1939).

Besonders WILSON und LEDUC (1948, 1950) sind für einen solchen mitotischen Entstehungsmechanismus — in all seinen möglichen Varianten — eingetreten, zumal sie die entsprechenden Mitose-Abwandlungen in der Mäuseleber unmittelbar nachweisen konnten. Wir sind auf Grund der Erfahrungen unseres Arbeitskreises der gleichen Ansicht, unter anderem auch deshalb, weil beim Umschlag vom Vermehrungswachstum ins Ersatzwachstum, also beim Übergang zum „steady state“, in der Nagerleber keine Dissoziation von H^3 -Thymidin- und

Mitoseindex nachzuweisen ist (STÖCKER, TEUBNER und ROSENBUSCH, 1964; vgl. LITVAK und BASERGA, 1964), wie sie zu erwarten wäre, wenn die Mehrzahl höherploidier und doppelkerniger Formen auf dem Wege einer Endo-Amitose zustande käme. Überdies spricht schon das normale Kernbild der Mäuseleber gegen eine bevorzugte Entstehung höherploidier Formen durch eine Endomitose. Denn wie MÜLLER (1964, 1966) gezeigt hat, sind hier die höheren Kernklassen praktisch ausschließlich durch eine Zunahme der Chromozentrenzahl und nicht durch eine Zunahme der Chromozentrengröße ausgezeichnet, was der Fall sein müßte, wenn Endomitosen in nennenswertem Maße an ihrer Bildung beteiligt wären. Daß sich die Nucleolen bei dieser Tierart gleichsinnig verhalten (BIESELE, POYNER und PAINTER, 1942; MÜLLER, 1964), weist in dieselbe Richtung, ebenso die Tatsache, daß Kerne der zweiten Größenklasse bei Frauen in einem weit höheren Prozentsatz zwei von einander entfernte Barr-Körperchen statt eines doppeltgroßen enthalten, wobei obendrein noch zu berücksichtigen ist, daß es sich im letztgenannten Falle auch um einen diploiden Kern in seiner postsynthetischen G₂-Phase handeln könnte (JAMES, 1964). Freilich sollen mit alledem Endomitose und Endoreduplikation nicht in Bausch und Bogen abgetan werden. Schon WILSON und LEDUC (1948, 1950) haben hervorgehoben, daß solche Vorgänge letzte Stadien einer fortschreitenden Unterdrückung des normalen Teilungsablaufes darstellen können, und überdies hat auch MÜLLER (1964, 1966) aus seinen, freilich durch carcinogene Substanzen erzeugten karyologischen Bildern eine echte Endomitose abgelesen. Aber man wird doch sagen können, daß derartige Vorgänge *normalerweise* ganz zurücktreten und bei der Entstehung groß- und zweikerniger Zellen im Rahmen des *organspezifischen Kernmusters* zahlenmäßig nicht ins Gewicht fallen.

In dieser Meinung werden wir noch dadurch bestärkt, daß wir auch bei Regenerationsprozessen an Leber und Niere von Ratten trotz reichlichem Auftreten abnormer Großkerne weder autoradiographisch (STÖCKER und HEINE, 1965) noch morphologisch Anhaltspunkte für eine stärkere Beteiligung von Endomitosen gesehen haben, die erwarteten Teilungsstörungen aber ohne weiteres nachzuweisen vermochten. Schließlich wäre auch noch anzuführen, daß die sog. indirekten Kerneinschlüsse in der menschlichen wie tierischen Leber unter normalen wie unter pathologischen Umständen nur in Großkernen gefunden werden. Denn da diese membranumzogenen Plasmainklusionen bei der Verschmelzung von Kernen oder Teilkernen angelegt werden (ALTMANN und HAUBRICH, 1965), stellen sie ein weiteres Indiz dafür dar, daß die Großkerne durch Störungen der regelhaften Zell- und Kernteilung zustande kommen. Diese gemeinsame Entstehungsursache macht verständlich, daß Großkerne und Kerneinschlüsse nach Zufuhr von Colchicin (vgl. ALTMANN und HAUBRICH, 1965) oder von cirrhogenen und cancerogenen Substanzen (z.B. MÜLLER, 1966) ebenso wie in höherem Lebensalter, vor allem im Senium, bei Mensch und Tier (ANDREW, BROWN und JOHNSON, 1943; ANDREW, 1962; ASHWORTH und REID, 1947; BOECKER, 1964) gleichermaßen vermehrt zu beobachten sind. Und dies wiederum spricht dafür, daß auch die altersbedingte Zunahme der Großkerne — ebenso wie diejenige nach toxischen Schäden oder regenerationsprozessen — die gleiche Ursache hat wie das erste Auftreten solcher Zellformen im Verlauf der Ontogenese: eine Störung der regelhaften Cyto- und Karyogenese. Da aber das

Ausbleiben der Plasmateilung gleichsam die leichteste Form einer „Spindelstörung“ darstellt und andererseits die fehlende Eröffnung der Kernmembran nur ein weiteres Stadium in der schrittweisen Unterdrückung der extranucleären Teilungsprozesse bedeutet (WILSON und LEDUC, 1948, 1950; MÜLLER, 1966), wird klar, daß das Spektrum der so erzielbaren Resultate von einer zweikernigen „Doppelzelle“ bis zu einem endopolyploiden Kern — in weitestem Sinne des Wortes — reichen kann. Zugleich wird dadurch aber erneut verdeutlicht, daß die endomitotische Entstehung — als einer von vielen Wegen — nur für einen kleinen Bruchteil der Großkerne zutreffen kann. Kern- oder Spindelverschmelzungen, abortive Ana- und Metaphasen, Störungen der prometaphasischen Einordnung und dergleichen mehr stellen, zusammengekommen, ein viel breiteres und daher häufiger durchschrittenes Tor zur Großkernbildung dar.

Aus dem Gesagten folgern wir, daß in der Übergangsphase vom Vermehrungswachstum zum „steady state“ die bis dahin vorherrschenden regelhaften Mitosen vorübergehend durch abortive Cyto- und Karyokinesen ersetzt werden — mit anderen Worten, daß beim Erlahmen des Wachstumsimpulses nicht einfach die Zell- und Kernteilungen verringert, sondern auch abgewandelt werden, bis sich dann ein neues Gleichgewicht zwischen Zelluntergang und Zellerneuerung eingestellt hat, in dem die wenigen noch nötigen Teilungsprozesse wieder ungestört ablaufen und die Erhaltung des organ- und artspezifischen Kernmusters garantieren. Es ist in diesem Zusammenhang von Interesse, daß zum gleichen Zeitpunkt der dem Vermehrungswachstum dienende Proliferationsmodus der Leberzellen, der dem anderer rasch wachsender Gewebe gleicht (POST, HUANG und HOFMAN, 1963), durch einen anderen abgelöst wird, der durch eine Verlängerung aller Stadien des Mitosecyclus — von der S-Phase über G_2 bis zur Karyokinese — ausgezeichnet ist (POST und HOFFMANN, 1964; STÖCKER und HEINE, 1965) und als charakteristisch für das nun folgende Ersatzwachstum, die „Zellmauserung“, zu gelten hat. Die Zeitspanne dieser Umschaltung dürfte es also sein, in der die erwähnten Mitosestörungen ablaufen.

In ähnlicher Weise ist unseres Erachtens auch die Zunahme der Großkerne in höherem Lebensalter damit zu erklären, daß jetzt die Fähigkeit zur mitotischen Zellerneuerung abnimmt und deshalb neuerliche Teilungsstörungen ins Spiel treten. Daß auch das Regenerationsvermögen der Leber im Alter nachläßt, ist aus entsprechenden Versuchen mit partieller Hepatektomie hinlänglich bekannt (vgl. BUCHER, 1963; BUCHER u. Mitarb., 1964). Bemerkenswerterweise wird die Zunahme der höherploiden Zellen im Alter besonders in der inneren Lappchenhälfte erkennbar (ANDREW, BROWN und JOHNSON, 1943; ASHWORTH und REID, 1947; BOECKER, 1964), also dort, wo auch in der Lebenshöhe Großkerne am leichtesten anzutreffen sind (MÜNZER, 1923; SULKIN, 1943). Das legt den Gedanken nahe, daß die ungünstigere Stoffwechselsituation, die am Ende der capillären Versorgungsstrecke herrscht und in vielen pathologischen Reaktionen zum Ausdruck kommt, einen örtlichen Faktor darstellt, der das Seine zur Abwandlung der Karyokinese beiträgt und eine allgemeine Tendenz lokal verstärkt.

Außer durch das Fehlen von Großkernen ist das *Karyogramm der kindlichen Leber* noch durch eine *breitere Streuung der Regelklasse* gekennzeichnet. Das gleiche ist auch bei jungen Ratten wiederholt festgestellt worden (Lit. bei

HELWEG-LARSEN, 1952). Besonders bei Tieren bis etwa zum Ende des zweiten Lebensmonats wird man, angesichts des hohen H^3 -Thymidin- und Mitoseindex (vgl. STÖCKER, TEUBNER und ROSENBUSCH, 1964), auf das starke Wachstum, mithin auf die beträchtliche Zahl DNS-synthetischer Zellen hinweisen dürfen, die zu einer gewissen Verbreiterung der Volumenkurve nach rechts führen muß. Beim Menschen wird das aber sicherlich, da die Mitoserate dafür zu gering ist, keine nennenswerte Rolle spielen, zumal auch die Organgewichtskurve, unter diesem Gesichtswinkel betrachtet, doch nur langsam ansteigt (BOYD, 1941). So dürfte es richtiger sein, die größere Schwankungsbreite des Kernvolumens funktionell zu erklären und auf die instabilen Verhältnisse des wachsenden Organismus zu beziehen, wie das schon HELWIG-LARSEN (1952) getan hat. Einen brauchbaren Hinweis darauf, daß wir es mit Lebergewebe eines noch nicht erwachsenen Menschen zu tun haben, stellen derartige Kurven jedoch nur dann dar, wenn es sich um normales Lebergewebe handelt. Denn unter pathologischen Bedingungen kann sich das Karyogramm älterer Personen diesem Zustand angleichen (vgl. Abb. 2).

Demgegenüber können wir einer weiteren an jugendlichen Lebern getroffenen Feststellung — der *Linksverlagerung des Mittelwertes* — keine dem Vorhergehenden vergleichbare Bedeutung zuerkennen. Denn erstens trifft sie nur für die Hälfte unserer Fälle zu, und zweitens handelt es sich hierbei, im Gegensatz zu dem von älteren Menschen stammendem Gewebe, um Sektionsgut, bei dem mit erheblichen postmortalen Einflüssen zu rechnen ist. Immerhin sei hervorgehoben, daß eine entsprechende Verschiebung auch bei noch nicht erwachsenen Ratten (MCKELLAR, 1949; HEIZER, 1955) gefunden worden ist, so daß wenigstens erwogen werden darf, ob im jugendlichen Organismus die Leber weniger belastet wird und damit — aus rein funktionellen Gründen — ein geringeres Kernvolumen ausreichend ist.

II. Pathologische Karyogramme

Von dem vorstehend erörterten normalen Karyogramm gibt es nun, wie oft schon der erste Eindruck lehrt, beträchtliche Abweichungen. Meist liegen dann auch andere eindeutig pathologische Veränderungen vor, mitunter ist aber auch nichts dergleichen nachweisbar. Unsere eigenen Untersuchungen sollen zunächst nichts anderes darstellen als einen ersten Versuch, an einigen recht gut charakterisierten Krankheitsfällen gewisse Möglichkeiten der Abweichung exakt zu belegen und ihrer Deutung näherzukommen. Mit Absicht haben wir uns dabei auf Punktate beschränkt, in denen sich die Verschiebungen noch in verhältnismäßig engen Grenzen hielten und immer noch gewisse Beziehungen zum Normalverhalten erkennen ließen.

Bei unseren Fällen von *akuter Hepatitis*, bei der mitunter beträchtliche Größenschwankungen der Kerne ohne weiteres augenfällig werden, stellt die breite Streuung der Regelklasse ein besonderes Kennzeichen des Karyogrammes dar (Abb. 2). Sie ist dafür verantwortlich, daß die Abgrenzung eines altersentsprechenden zweiten Gipfels erschwert oder gar unmöglich ist. Im Extremfall kann daraus eine breite einheitliche Kurve resultieren, die derjenigen kindlicher Lebern weitgehend ähnelt (Abb. 2c). Darüber hinaus ist auch die in 2 von 4 Fällen beobachtete Rechtsverschiebung der Mittelwerte der Regelklasse bemerkenswert und wohl ein pathologisches Phänomen.

Für die breitere Streuung der Regelklasse ist ursächlich eine Reihe von Faktoren anzuführen. Zunächst ist aus dem kräftig erhöhten Mitoseindex — in unseren Fällen bis $70/_{00}$ — zu schließen, daß sich ein nicht geringer Anteil der Kerne im Zustand der interphasischen DNS-Synthese befinden und sich daher volumetrisch dem tetraploiden Gipfel nähern muß. Zum anderen ist damit zu rechnen, daß im Verlaufe früher durchlaufener Mitosen auch aneuploide Kerne von unter- wie von überdurchschnittlicher Größe entstanden sind. Aber solche mit Abweichungen im DNS-Gehalt verbundenen Volumenschwankungen treten sicher hinter funktionellen Faktoren zurück, die das Kernvolumen beeinflussen und zu kontinuierlichen Veränderungen veranlassen. Sie beruhen auf Änderungen im Hydratationsgrad der Kernchromosomen und, damit gekoppelt, im Gehalt und im Umsatz von Eiweiß und RNS, die zu gleichgerichteten Schwankungen im Kernvolumen führen und sich auch in der bei Hepatitis stets nachweisbaren Nucleolenvergrößerung äußern. Sei es, daß die in einer solchen „funktionellen Kernschwellung“ zum Ausdruck kommende nucleare Leistungssteigerung durch den Virusbefall ausgelöst wurde, sei es, daß sie den der regenerativen Zellvermehrung zugeordneten cellulären Umsteuerungs- und Wachstumsprozessen dienlich ist. Auch für die erwähnte Rechtsverschiebung der Klassenmittelwerte sind in erster Linie derartige funktionell bedingte nucleare Volumenvergrößerungen maßgeblich.

Solche funktionell bedingten Veränderungen des Karyogramms bilden sich mit Abklingen der Hepatitis, wie unsere Verlaufsuntersuchungen zeigen, spurlos zurück. Ja, es kann sogar das normale altersentsprechende Karyogramm alsbald wieder völlig hergestellt sein. Das trifft aber offenbar nur für leichtere, rasch in Heilung übergehende Fälle zu — denn mitunter bleibt auch eine abnorm hohe Zahl größerer Kernformen zurück. Da sich die Streubreite der einzelnen Kernklassen der Norm wieder angeglichen hat und überdies auch die für akute Stadien charakteristische Aufhellung der Kerne zurückgegangen ist, kann dies nur als Zunahme der polyploiden Formen gedeutet werden. Dafür müssen die voraufgegangenen Kernteilungen verantwortlich sein — und zwar in dem Sinne, daß ein größerer Teil der Mitosen statt zur Zellverdoppelung zur Zell- und Kernvergrößerung — oder zu mehrkernigen Zellformen! — geführt hat. Der durch den hepatitischen Zelluntergang gesetzte Regenerationsimpuls führt also, zumindest bei einem Teil der Zellen, zu Mitosestörungen im früher charakterisierten Sinne. Es muß offenbleiben, ob das allein mit der Regeneration als solcher zu tun hat, oder damit, daß die Regeneration in der erkrankten Leber anders als sonst verläuft (vgl. WILSON und LEDUC, 1950). Man kann zwar darauf hinweisen, daß auch nach experimenteller partieller Hepatektomie die Zahl der Großkerne steigt (Lit. bei BUCHER, 1963), aber selbst in solchen Fällen ist eine zusätzliche Beeinträchtigung der Karyokinese infolge der im Restgewebe herrschenden Stoffwechselstörung gewiß nicht auszuschließen. Trotz dieser Unsicherheit läßt sich jedoch präzise sagen, daß unter Umständen eine Störung des organspezifischen Kernmusters, insonderheit eine Vermehrung der Großkerne, das einzige Zeichen voraufgegangener Regeneration sein kann und damit auch bei leerer Anamnese an ein solches Ereignis denken lassen sollte. Wie lange ein derartiges Zustandsbild erhalten bleibt, ist unbekannt. Daß es zur Norm zurückkehren kann und, bei völliger Wiederherstellung der regelhaften Leberarchitektur,

auch zurückzukehren pflegt, ist nach den eigenen einschlägigen Erfahrungen an menschlichem wie tierischem Untersuchungsgut jedoch kaum zu bezweifeln. Gegenteilige Befunde nach partieller Hepatektomie (z.B. SULKIN, 1943) liefern kein Gegenargument, da hier die Läppchengröße durch die regeneratorsche Zellvermehrung wesentlich verändert wird.

Eine Bestätigung und Erweiterung des für die Hepatitis Gesagten liefern unsere Beobachtungen an *Lebercirrhosen* (Abb. 3). Sie bekräftigen zunächst einmal die bereits bekannte Zunahme der Großkerne, wobei sogar sonst nicht verwirklichte Ploidiestufen erreicht werden können (CLARA, 1930; ARNDT, 1935; BUCHER, 1938). Darüber hinaus aber zeigen sie, in Bestätigung des geläufigen optischen Eindruckes, daß die Großkerne in bestimmten Arealen gehäuft vorkommen — hier ist die Volumenkurve in jedem Falle mit mehreren klaren Gipfeln versehen — und daß es andererseits Zonen gibt, die ganz überwiegend aus kleineren, der Regelklasse angehörenden Kernformen aufgebaut sind. Wie sich aus der Art und der Zellgestalt und -anordnung dieser Areale ergibt, handelt es sich hierbei stets um echte, oft knotige Regenerate („knotige Hyperplasien“), während die großen und übergroßen Kernformen vor allem in stehengebliebenen oder wenigstens kaum umgebauten Resten des „alten“ Parenchyms zu finden sind.

Wir möchten dem entnehmen, daß die kleinkernigen Areale solche Regionen kennzeichnen, in denen die Stoffwechselsituation eine ungestörte Antwort auf den Regenerationsimpuls in Gestalt regelhafter Zell- und Kernteilungen ermöglicht hat, während im Gebiet der Großkerne höchstens noch abortive Cyto- und Karyokinesen möglich waren (vgl. ALTMANN, 1961). Es ist ohne weiteres verständlich, daß bei schweren Lebercirrhosen das Wachstum in rhythmischen Proportionen nicht mehr nachweisbar sein kann: Neben Störungen durch Aneuploidien muß, besonders wenn die Grenze der cellulären Kompensation erreicht ist, mit maskierenden funktionellen und pathologischen Kernschwellungen gerechnet werden.

Verallgemeinernd darf man aus den angeführten Beispielen pathologischer Karyogramme aber doch nur schließen, daß die Existenz abnorm vieler oder abnorm voluminöser Großkerne auf vorausgegangene abortive Mitosen hinweist. Sie können dabei gewiß, wie in den eben besprochenen Fällen, ein Zeichen für abgelaufene, durch krankhafte Zelluntergänge ausgelöste regeneratorsche Prozesse darstellen. Aber ebenso gut ist denkbar, daß länger währende, sonst unerschwellige Schäden eine Beeinträchtigung des physiologischerweise mitotisch ablaufenden, der Erhaltung des „steady states“ dienenden Ersatzwachstums mit sich bringen und damit auf demselben Wege zum gleichen Resultat führen. Wirkt sich der Einfluß solcher Schädigung gar dahin aus, daß die „Lebenszeit“ der einzelnen Zellen verkürzt und damit, wegen der Erhöhung des spurlos und unmerklich vor sich gehenden Zellverschleißes, auch die „Mauserungsrate“ des Organes gesteigert wird, so kann dergleichen sicher verhältnismäßig rasch zustande kommen. Aber, wie auch immer entstanden, ein pathologisches Phänomen ist eine solche Änderung des normalen Karyogramms in jedem Falle. Und damit hat seine Erkennung nicht theoretische, sondern auch praktische Bedeutung.

Zusammenfassung

Bis zum 13. Lebensjahr enthält das Leberparenchym fast ausschließlich diploide Kerne. Ein kleines tetraploides Kollektiv tritt mit dem 13. Lebensjahr erstmals in Erscheinung, ist mit dem 40. Lebensjahr konstant nachweisbar und nimmt im Laufe der weiteren Entwicklung bis ins Senium hinein an Umfang zu. Die zweikernigen Zellen verhalten sich gleichsinnig. Großkerne der oktaploiden Größenordnung und darüber lassen erst ab dem 6. Lebensjahrzehnt eine deutliche Zunahme erkennen, die in der 7. Lebensdekade ihr Maximum erreicht.

Die Entstehung polyploider Kerne wird auf Störungen der Zell- und Kernteilungen zurückgeführt, die normalerweise einmal am Ende der Wachstumsperiode — beim Übergang vom cellulären Vermehrungswachstum zum Ersatzwachstum —, zum anderen beim Altern des Organismus in den Vordergrund treten. Im „steady state“ der Lebenshöhe wird der physiologische Zellersatz durch regelhafte Zell- und Kernteilungen gewährleistet.

An Fällen von Virushepatitis, Zustand nach Hepatitis und Cirrhose werden gewisse Abweichungen vom normalen Karyogramm dargestellt. Eine für die jeweilige Lebensstufe zu hohe Zahl an polyploiden Kernen weist entweder auf abgelaufene Regenerationsprozesse oder auf eine Beeinträchtigung des physiologischen Zellersatzes — und damit auf leichteste Grade einer hepatocellulären Schädigung — hin. Die Feststellung eines solchen abnormen Zahlenverhältnisses hat also diagnostischen Wert.

The Karyogram of the Human Liver in Normal and Pathologic Conditions

Summary

From birth to 13 years the liver parenchyma contains only diploid nuclei. A small tetraploid collective, first appearing at 13 years, is always demonstrable at 40 years and increases from that time to senility. The binucleate cells behave in the same manner. Large nuclei of octoploid and higher values reveal an increase from 60 years and reach their maximum after 70 years.

The development of polyploid nuclei is a consequence of mitotic disturbances which normally take place first at the end of the growing period — during the transition from cellular multiplication (i.e. partially exponential growth) to cellular replacement; and second, during aging. During the steady state period the physiological replacement of liver cells is guaranteed by regular cellular and nuclear divisions.

Aberrations of the typical human karyogram are demonstrated in some cases of hepatitis, posthepatic conditions and cirrhoses. A number of polyploid nuclei, greater than to be expected for the respective time of life, may signify former regeneration processes or indicate a disturbance of the physiological replacement of cells (the mildest grade of hepatocellular damage). Consequently, the determination of such an abnormal number of polyploid nuclei is of diagnostic value.

Literatur

ALFERT, M., and J. J. GESCHWIND: The development of polysomaty in rat liver. *Exp. Cell Res.* 15, 230—232 (1958).

- ALTMANN, H.-W.: Entstehung und Abgrenzung der Lebercirrhosen. *Gastroenterologia* (Basel) **95**, Suppl. 7—29 (1961).
- , u. J. HAUBRICH: Über hepatozelluläre Mitosestörungen und Kerneinschlüsse nach wiederholten Colchicingaben. *Beitr. path. Anat.* **131**, 355—394 (1965).
- ANDREW, W.: An electron microscope study of age changes in the liver of the mouse. *Amer. J. Anat.* **110**, 1—18 (1962).
- H. M. BROWN, and J. B. JOHNSON: Senile changes in the liver of mouse and man, with special reference to the similarity of the nuclear alterations. *Amer. J. Anat.* **72**, 199—221 (1943).
- ARNDT, G.: Kernstudien zur Unterscheidung von Regeneration und Geschwulstbildung. *Z. Krebsforsch.* **41**, 393—444 (1935).
- ASHWORTH, C. T., and H. C. REID: Intralobular regeneration of liver cells in man. *Amer. J. Path.* **23**, 269—281 (1947).
- BEAMS, H. W., and Q. L. KING: The origin of binucleate and large mononucleate cells in the liver of rat. *Anat. Rec.* **83**, 281—297 (1942).
- BIESELE, J. J., H. POYNER, and T. S. PAINTER: Nuclear phenomena in mouse cancers. *Univ. of Texas Publ. No 4243*, 1—68 (1942).
- BOECKER, W.: Über intranucleäre Fetttropfen in menschlichen Leberzellen. *Beitr. path. Anat.* **129**, 414—435 (1964).
- BOEHM, J.: Untersuchungen über zweikernige Zellen. II. Mitt. Die Auszählung und Berechnung der zweikernigen Leberzellen. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **24**, 263—285 (1931).
- BOYD, E.: Normal variability in weight of the adult human liver and spleen. *Arch. Path.* **16**, 350—372 (1933).
- BUCHER, N. L. R.: Regeneration of mammalian liver. *Int. Rev. Cytol.* **15**, 245—300 (1963).
- M. N. SWAFFIELD, and J. F. DITROIA: The influence of age upon the incorporation of thymidine-2- C^{14} into the DNA of regenerating rat liver. *Cancer Res.* **24**, 509—512 (1964).
- BUCHER, O.: Das Karyogramm („Kernbild“) als Ausdruck der Zellaktivität. *Verh. anat. Ges. (Jena)*, Suppl. ad *Anat. Anz.* **105**, 119—129 (1958).
- CARR, R. D., M. J. SMITH, and P. G. KEIL: The liver in the aging process. *Arch. Path.* **70**, 1—4 (1960).
- CASPERSSON, T., T. FREDERIKSSON, and K. G. THORSSON: A microplanimeter for measurement of endonuclear structures. *Hereditas (Lund)* **49**, 201 (1935).
- CAVALLI, G.: Contenuto in acido desossiribonucleico e volume nucleare degli epatociti umani durante l'organogenesi e nell'adulto. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **66**, 428—444 (1960).
- CLARA, M.: Untersuchungen an der menschlichen Leber. II. Teil. Über die Kerngrößen in den Leberzellen. Zugleich über Amitose und das Wachstum der „stabilen Elemente“. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **22**, 145—219 (1930).
- Über den Bau der Leber beim Kaninchen und die Regenerationserscheinungen an diesem Gewebe bei experimenteller Phosphorvergiftung. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **26**, 45—172 (1931).
- DOLJANSKI, F.: The growth of the liver with special reference to mammals. *Int. Rev. Cytol.* **10**, 217—241 (1960).
- GRUNDMANN, E., u. G. BACH: Amitosen, Endomitosen und Mitosen nach partieller Hepatektomie. (Eine karyometrische und cytophotometrische Studie über die Beziehungen zwischen Regeneration und Funktion.) *Beitr. path. Anat.* **123**, 144—172 (1960).
- HEIZER, P.: Desoxyribose nucleic acid (DNA) content and size of rat liver nuclei during thioacetamide intoxication and recovery. *Chromosoma (Berl.)* **7**, 281—327 (1955).
- HELWIG-LARSEN, H. F.: Nuclear class series. *Acta path. microbiol. scand.*, Suppl. **92** (1952).
- HIMES, M., J. HOFFMAN, A. W. POLLISTER, and J. POST: Origin of polyploid nuclei in rat liver during regeneration following carbon tetrachloride poisoning. *J. Mt Sinai Hosp.* **24**, 935—938 (1957).
- INAMDAR, N. B.: Polyploidy in mouse liver. *J. Morph.* **103**, 65—90 (1958).
- JACOBJ, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdopplung ihres Volumens. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* **106**, 124—192 (1925).
- Volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen des Menschen und das allgemeine Problem der Zellkerngröße. *Anat. Anz.*, Suppl. **72**, 236—347 (1931).

- JACOB, W.: Die Zellkerngröße beim Menschen (ein Beitrag zur quantitativen Cytologie). Z. mikr.-anat. Forsch. **38**, 161—240 (1935).
- JAMES, J.: Intermitotic transformation of the barr body in cultured cells of the human female. Z. Zellforsch. **64**, 178—188 (1964).
- R. LEUCHTENBERGER, and A. M. DAVIS: A microphotometric study of desoxyribose nucleic acid contents in cells of normal and malignant human tissues. Amer. J. Path. **30**, 65—85 (1954).
- LITVAK, R. M., and R. BASERGA: An autoradiographic study on the uptake of ^3H -thymidine of kidney cells of mice at different ages. Exp. Cell Res. **33**, 540—552 (1964).
- LOESCHKE, K.: Orientierende Untersuchungen zum Karyogramm der menschlichen Leber unter normalen und pathologischen Bedingungen. Inaug.-Diss. med. Würzburg 1963.
- McKELLAR, M.: The postnatal growth and mitotic activity of the liver of the albino rat. Amer. J. Anat. **85**, 263—307 (1949).
- MÜLLER, H.-A.: Experimentell erzeugte Änderungen der organspezifischen Kernstruktur in der Mäuseleber. Verh. dtsh. Ges. Path. **48**, 200—203 (1964).
- Die Chromozentren in den Leberzellkernen der Maus unter normalen und pathologischen Bedingungen. Ergebn. allg. Path. path. Anat. **47**, 144—185 (1966).
- MÜLLER, H. G.: Die Entwicklung der Kerngrößenverhältnisse in der Leber der weißen Maus. Z. mikr.-anat. Forsch. **41**, 296—320 (1937).
- MÜNZER, F. TH.: Über die Zweikernigkeit der Leberzellen. Arch. mikr. Anat. **98**, 249—282 (1923).
- NAORA, H.: Microspectrophotometry of cell nuclei stained with the Feulgen reaction. IV. Formations of tetraploid nuclei in rat liver cells during postnatal growth. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 949—975 (1957).
- PFUHL, W.: Untersuchungen über zweikernige Zellen. I. Die Berechnung der zweikernigen Zellen nach der Auszählung im histologischen Schnitt. Z. mikr.-anat. Forsch. **22**, 557—577 (1930).
- Die mitotischen Teilungen der Leberzellen in Zusammenhang mit den allgemeinen Fragen über Mitose und Amitose. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. **109**, 99—133 (1939).
- POST, J., and J. HOFFMAN: Changes in the replication times and patterns of the liver cell during the life of the rat. Exp. Cell Res. **36**, 111—123 (1964).
- CH.-Y. HUANG, and J. HOFFMAN: The replication time and pattern of the liver cell in the growing rat. J. Cell Biol. **18**, 1—12 (1963).
- SIESS, M., u. H. STEGMANN: Meßtechnische Untersuchungen über das Wachstum der Leber der weißen Maus als Grundlage für morphologisch-funktionelle Studien. Virchows Arch. path. Anat. **318**, 534—574 (1950).
- STÖCKER, E., u. W.-D. HEINE: Über die Proliferation von Nieren- und Leberepithel unter normalen und pathologischen Bedingungen. Autoradiographische Untersuchungen mit H^3 -Thymin an der Ratte. Beitr. path. Anat. **131**, 410—434 (1965).
- E. TEUBNER u. G. ROSENBUSCH: Die DNS-Synthese als Funktion des Alters in Leber und Niere der Ratte. Verh. dtsh. Ges. Path. **48**, 295—299 (1964).
- SULKIN, N. M.: A study of the nucleus in the normal and hyperplastic liver of the rat. Amer. J. Anat. **73**, 107—125 (1943).
- SWARTZ, F. J.: The development in the human liver of multiple desoxyribose nucleic acid (DNA) classes and their relationship to the age of the individual. Chromosoma (Berl.) **8**, 53—72 (1956).
- WILSON, J. W., and E. H. LEDUC: The occurrence and formation of binucleate and multinucleate cells and polyploid nuclei in the mouse liver. Amer. J. Anat. **82**, 353—392 (1948).
- — Abnormal mitosis in mouse liver. Amer. J. Anat. **86**, 51—73 (1950).

Prof. Dr. H.-W. ALTMANN
Pathologisches Institut der Universität
87 Würzburg, Luitpoldkrankenhaus