

## Haben die Sphaeridien in den Zellkernen kranker Gewebe eine pathognomonische Bedeutung? \*

D. W. BÜTTNER und E. HORSTMANN

Anatomisches Institut der Universität Hamburg (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. HORSTMANN)

Eingegangen am 10. September 1967

### *Are the Sphaeridies in the Cells of Pathological Tissues of Pathognomonic Significance?*

**Summary.** In the caryoplasm of man and 24 species of mammals, birds, and reptiles of 14 different orders round structures with a diameter of 0,3—1,5  $\mu$  have been observed which are named sphaeridies. They consist of an externum with 70—100 Å thick filaments and an internum with few or many electron-dense granula with a diameter of 150—200 Å. In the internum one finds inclusions of electron-dense globules, crystalloids, and membrane-bound vesicles. Dependent on these structural differences four types are described: a filamentous, a granular, a globular, and a membranous type. They are found in nearly all tissues except granulocytes and striated muscle. They are very frequent in the cells of the lymphatic system and in hormone-sensitive organs like the adrenal gland. Sphaeridies are described in experimental infections of animals with *Schistosoma mansoni*, *Plasmodium berghei*, *Theileria parva*, and with fowlpox virus, and in man in the atypical lymphocytes of infectious mononucleosis, in carcinoma of the uterus and mamma, in psoriasis vulgaris, and in lichen ruber planus. The morphology of the sphaeridies is identical in the cells of the healthy and pathological tissues. The results of earlier investigations are compiled in a list and discussed. The sphaeridies are not of viral origin and they have no pathognomonic significance. Their meaning is a problem of general cytology. It is supposed that the sphaeridies are a structure of the caryoplasm associated with the synthesis of protein in the nucleus.

**Zusammenfassung.** Die als Sphaeridien bezeichneten, ca. 0,3—1,5  $\mu$  großen, kugeligen Karyoplasmadifferenzierungen konnten beim Menschen und bei 24 Wirbeltierarten aus 14 verschiedenen Ordnungen in fast allen Geweben nachgewiesen werden. Ein filamentöses Externum umschließt ein granuläres Internum, in das weitere Strukturelemente eingelagert sein können. Dadurch ergeben sich vier verschiedene Typen: ein filamentöser, ein granulärer, ein globulärer und ein membranöser Typ. Die vergleichende Untersuchung in den Geweben von gesunden und an verschiedenen Infektionskrankheiten, Neoplasien und Dermatosen leidenden Menschen und Tieren ergibt in Übereinstimmung mit den meisten Einzelbeobachtungen in der Literatur keine wesentlichen Unterschiede der Sphaeridienstruktur in gesunden und pathologisch veränderten Zellen. Somit kommt den Sphaeridien keine pathognomonische Bedeutung zu. Ihre Funktion stellt ein Problem der allgemeinen Cytologie dar. Es wird hypothetisch angenommen, daß sie eine Rolle bei der Proteinsynthese im Kern spielen.

Die Einführung der Dünnschnitttechnik in die Elektronenmikroskopie ergab reiche Einblicke in die Struktur der cytoplasmatischen Zellorganellen und erlaubte in vielen Fällen die Korrelierung von morphologischen und biochemischen Befunden. Im Vergleich hierzu hat die Analyse des *Arbeitskernes* trotz zahlloser Bemühungen nur wenige, regelmäßig vorkommende Strukturen erkennen lassen (Übersicht bei BERNHARD und GRANBOULAN, 1963, und HYDE, 1965). Seit Beginn der

\* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

sechziger Jahre wurde hie und da eine Karyoplasmastruktur meist als Nebenfund beobachtet, die früher wegen ihrer geringen Größe offenbar der Aufmerksamkeit entgangen war.

Es handelt sich dabei um ca. 0,3—1,5  $\mu$  große, kugelige Gebilde (THÉ u. Mitarb., 1960; HINGLAIS-GUILLAUD u. Mitarb., 1961; ZELICKSON und LYNCH, 1961; BESSIS und THIERY, 1962; BRODY, 1962a und b; FARQUHAR und PALADE, 1962; LATTI und MAUNSBACH, 1962; OGAWA, 1962). Die ersten ausführlichen Untersuchungen stammen von WEBER u. Mitarb. (1964) am Rind, von BIERWOLF und THORMANN (1965) am Keratoakanthom des Menschen, von HORSTMANN (1965) und HORSTMANN u. Mitarb. (1966) am Nebenhoden von Hund und Mensch. Durch vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen konnten BÜTTNER und HORSTMANN (1967) zeigen, daß diese Strukturen bei den Säugetieren und beim Menschen in verschiedenen Geweben weit verbreitet sind. Sie wurden *Sphaeridien* genannt, während sie im englischen Sprachgebrauch meist als „nuclear bodies“ erscheinen. Auch bei Vögeln und Reptilien sind die Sphaeridien nachzuweisen (HORSTMANN und BÜTTNER, 1967). Inzwischen wurden diese Untersuchungen auf weitere Organe und andere Tier- und Pflanzenarten ausgedehnt (BÜTTNER, 1963b). Da das Literaturstudium ergab, daß die meisten Untersucher nicht nur die allgemeine Bedeutung dieser Struktur verkannten, sondern auch die *Sphaeridien bei der Diskussion um die Klärung von Krankheiten* unbekannter Ätiologie *heranzogen*, sind wir in der vorliegenden Arbeit der Frage nachgegangen, ob die Sphaeridien eine pathognomonische Bedeutung besitzen. Es wurden deshalb vergleichend gesunde und kranke Gewebe des Menschen und verschiedener Tiere elektronenmikroskopisch untersucht. Die Beobachtung wurde bewußt nicht auf den Menschen beschränkt, da die Frage nach der Natur der Sphaeridien auch für die experimentelle Pathologie von Bedeutung zu sein scheint. Soweit es möglich war, wurden die in der Literatur verstreuten Befunde für die Diskussion ausgewertet und teilweise tabellarisch wiedergegeben.

### Material und Methoden

Eine ausführliche Angabe der Methodik erfolgte bei der Darstellung der Verbreitung der Sphaeridien in gesunden Geweben der Säugetiere (BÜTTNER und HORSTMANN, 1967). Dieses in der Zwischenzeit erheblich erweiterte Material wurde auch für die vorliegende Untersuchung als Kontrolle verwendet. Um die wiederholt aufgestellte Behauptung einer pathognomonischen Bedeutung der Sphaeridien nachzuprüfen, wurden Gewebeproben von den folgenden Erkrankungen bei Menschen und Tieren untersucht: experimentelle Bilharziose nach Infektion des Goldhamsters mit *Schistosoma mansoni*, experimentelle Malaria nach Infektion mit *Plasmodium berghei*, experimentelles Ostküstenfieber des Rindes nach Infektion mit *Theileria parva* und Infektionen mit anderen Protozoen der Gattungen *Babesia* und *Lankesterella*, experimentelle Infektion des Hühnerembryo mit Hühnerpockenvirus; beim Menschen infektiöse Mononukleose, Uterus- und Mammacarcinom vor der Bestrahlung, Psoriasis vulgaris und Lichen ruber planus vor Therapiebeginn. Objekte, die bisher keine eindeutigen Befunde ergeben haben, sind nicht aufgeführt worden.

Für die freundliche Unterstützung bei der Materialbeschaffung danken wir den Herrn Dr. MATTHAES, Chirurgische Universitätsklinik (Schilddrüse, Haut), Priv.-Doz. Dr. BLUNCK, Universitäts-Kinderklinik (infektiöse Mononukleose), Priv.-Doz. Dr. STEGNER, Universitäts-Frauenklinik (Uterus- und Mammacarcinom), Prof. SCHINDLER (Protozoeninfektionen), Dr. MINNING (Bilharziose) und Dr. NIELSEN, Tropeninstitut Hamburg (Hühnerpocken).

Blut- oder Gewebeproben wurden sofort nach der Entnahme vom lebenden Organismus mit 1%igem  $\text{OsO}_4$  in Daltonpuffer 1 Std oder mit 2—3%igem Glutaraldehyd in Phosphat-

oder Natriumcacodylatpuffer 5 Std fixiert. Der Glutaraldehydfixierung folgte nach 10- bis 20stündigem Waschen in Pufferlösung eine 1stündige Nachfixierung in gepufferter 1%iger  $\text{OsO}_4$ -Lösung. Alle Fixierungs- und Waschlösungen waren eiskalt, auf pH 7,2 eingestellt und enthielten  $0,5 \cdot 10^{-3}$  M  $\text{CaCl}_2$ . Nach der Fixierung wurde mehrfach in Puffer gewaschen, mit Äthanol und Propylenoxid oder Azeton meist unter Einschaltung einer  $\text{UO}_2$ -haltigen Stufe dehydratisiert und in Epon 812 oder Vestopal W eingebettet. Die mit dem Ultratome (LKB) angefertigten Dünnschnitte wurden nacheinander mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert und im Elmiskop I (Siemens) oder EM 9 (Zeiss) beobachtet.

Für die lichtmikroskopische Untersuchung wurden dicke Kunststoffschnitte mit Azur-II-Methylenblau nach RICHARDSON, mit Toluidinblau-Pyronin und mit Giemsa-Lösung, sowie Ausstriche und Paraffinschnitte mit verschiedenen Methoden gefärbt. Zum Vergleich im Licht- und Elektronenmikroskop wurden alternierende Dün- und Dickschnitte verwendet.

### Ergebnisse

Die Sphaeridien wurden mit dem Elektronenmikroskop entdeckt. Sie sind also durch ihre Morphologie im Ultrastrukturbereich gekennzeichnet. Im Karyoplasma fallen sie durch die regelmäßige Anordnung der einzelnen Strukturelemente auf. Es handelt sich um sphärische Gebilde mit einem Durchmesser von ca.  $0,3\text{--}1,5\ \mu$ . Trotz der sehr regelmäßigen Anordnung der Hauptbestandteile lassen sich durch Fehlen oder Einlagerung weiterer Strukturen *vier Typen* unterscheiden: ein filamentöser, ein granulärer, ein globulärer und ein membranöser Typ.

Zuerst soll der *granuläre Typ* beschrieben werden, weil er am häufigsten zu beobachten ist. Er ist aus einem nur wenig elektronendichten, feinfädigen Externum und einem Internum aufgebaut. Das Externum besteht aus einem Geflecht von ca.  $70\text{--}100\ \text{\AA}$  dicken Filamenten, die im Schnittbild häufig 2–10 konzentrische Ringe erkennen lassen. In der Peripherie ziehen sie in das umgebende Karyoplasma und verbinden sich dort mit filamentösen Strukturen (Abb. 1 und 2). Gelegentlich besteht diese Verbindung aber auch nur aus einzelnen Fäden, so daß das Sphaeridion von einem substanzarmen Hof umgeben ist. Im Internum befinden sich zwischen zehn und mehreren tausend, sehr elektronendichte Granula von  $150\text{--}200\ \text{\AA}$  Durchmesser. Diese Granula können ganz dicht gepackt (Abb. 3e), sie können aber auch in eine weniger elektronendichte Matrix eingelagert sein (Abb. 2 und 5b), oder beide Erscheinungsformen sind nebeneinander im Internum eines Sphaeridion zu beobachten (Abb. 7a). Den Filamenten, den Granula und der Matrix entsprechende Elemente finden sich in gleicher Form und Größe auch im übrigen Karyoplasma. Sie stellen wahrscheinlich keine besonderen Elementarstrukturen dar. Das Sphaeridion ist nicht durch seine Bestandteile definiert, sondern durch die besondere Art der Anordnung dieser Strukturelemente.

Seltener sind *aggregierte Formen* zu beobachten, bei denen mehrere Sphaeridien miteinander verbunden sind, indem sich einem zentral liegenden Körperchen weitere kappenförmig anschließen. Aggregierte Formen haben wir besonders häufig in der glatten Muskulatur des Kaninchenuterus post partum gesehen. Sie sind aber auch in vielen anderen Geweben zu finden. Die beiden Abbildungen (Abb. 2a und b) stammen aus der Nebenniere des Iltis und aus einem inguinalen Lymphknoten eines Rhesusaffen. In das Internum können verschiedene Substanzen eingelagert sein. Im Nebenhoden des Hundes fanden sich Lamellenkörper (HORSTMANN, 1965) und in den Zellen des reticuloendothelialen Systems

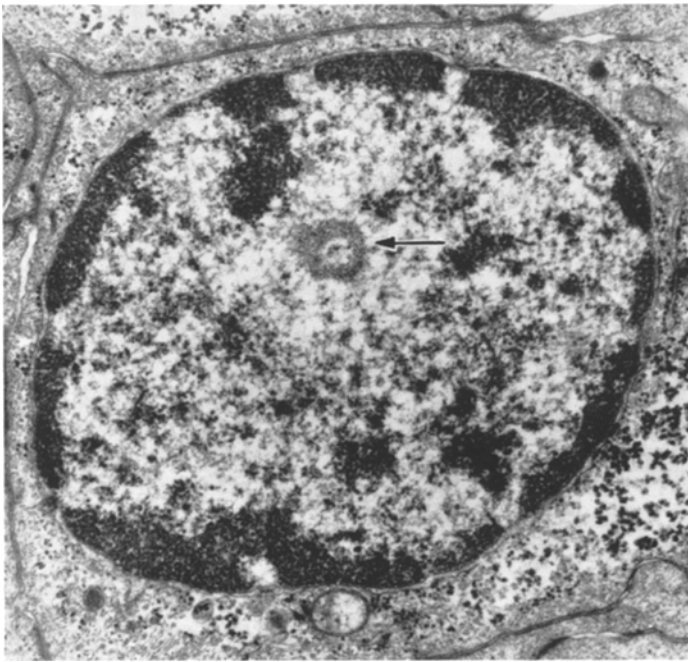


Abb. 1. Sphaeridion (↑) im Kern einer Leberparenchymzelle des Goldhamsters bei experimenteller Infektion mit dem Erreger der menschlichen Darmbilharziose (*Schistosoma mansoni*). Vergr. 20000fach

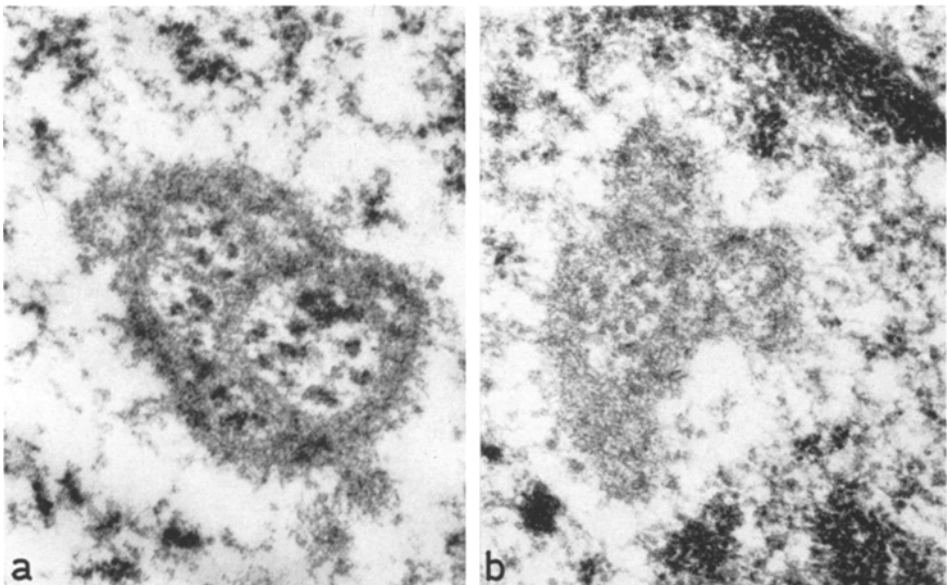


Abb. 2a u. b. Aggregierte Sphaeridien vom granulären Typ aus Zellkernen a der Nebenniere des Iltis (*Putorius putorius*) und b aus einem inguinalen Lymphknoten des Rhesusaffen. Vergr. 50000fach

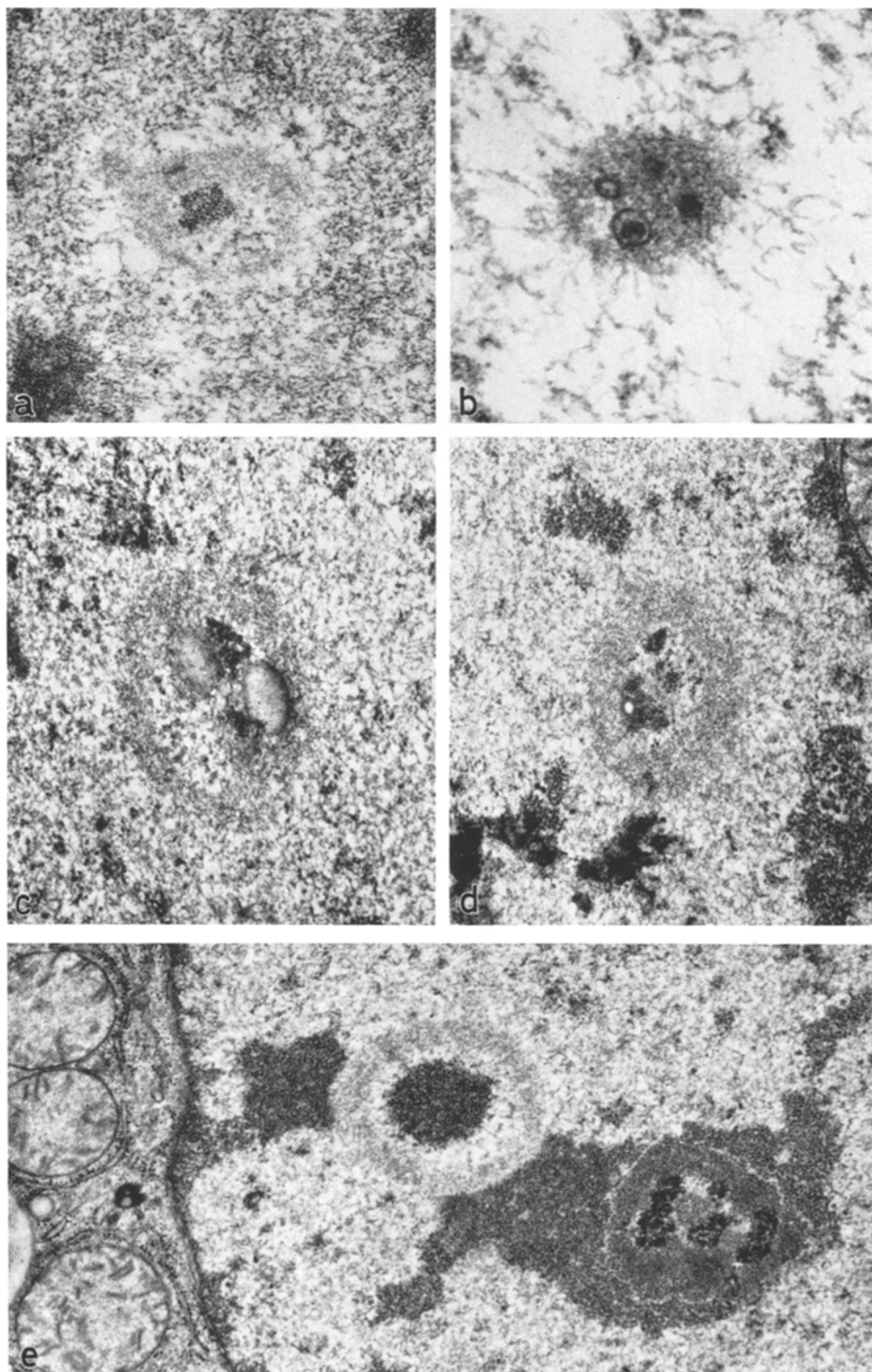


Abb. 3 (Legende s. S. 147)

der Katze kristalloide Einschlüsse mit einem hexagonalen Muster bei einer Periodizität von ca. 400 Å (BÜTTNER, 1968a).

Sind im Internum eine oder mehrere Kugeln aus einem homogenen, sehr elektronendichten Material zu beobachten, so sprechen wir von einem *globulären Typ*. Dieser Typ ist besonders in hormonsensitiven Organen zu beobachten: Schilddrüse, Placenta und Nebenhoden des Menschen, Nebenhoden des Hundes und Nebenniere des Rindes. Treten im Bereich des Sphaeridion echte Membranen im Sinne einer einfachen Elementarmembran auf, so handelt es sich um den *membranösen Typ* (Abb. 3b und d). Die Membranen umschließen entweder elektronendichte Kugeln oder hellere Vacuolen. Fehlt den Sphaeridien dagegen ein Internum auch bei der Untersuchung von Serienschritten völlig, so sprechen wir vom *filamentösen Typ*.

Dieser Typ kann in den Kernen von Säugergewebe manchmal nur schwer von Ansammlungen fibrillären Karyoplasmas unterschieden werden. Bei den Vögeln und Reptilien, wo der filamentöse Typ häufiger auftritt, ist die konzentrische Anordnung meistens eindeutiger.

Öfter sind in einem Zellkern auf einem Schnittbild mehrere Sphaeridien zu beobachten. Wir errechneten für die Retikulumzellen in menschlichen Lymphknoten von Erwachsenen und Embryonen durchschnittlich 2—4 pro Kern. In einzelnen Kernen können aber mehr als 20 Sphaeridien vorkommen. In den menschlichen Lymphocyten finden wir durchschnittlich nur ein Sphaeridion pro Kern. Die Kerne der Nebennierenrindenzellen des Rindes enthalten durchschnittlich 3 Sphaeridien. Die gleiche Anzahl bestimmten wir in den Parenchymzellen der Nebenniere beim Höckerschwan (*Cygnus olor*) und auch in der Nebennierenrinde des erwachsenen Menschen dürfte jeder Kern mehrere enthalten. Im Nebennierenrindenparenchym eines menschlichen Embryo von 12 Wochen konnten wir bisher keine Sphaeridien finden.

Der Nucleolus ist immer eindeutig durch seinen sehr viel intensiveren Kontrast und die fehlende Schichtung in ein Internum und ein Externum mit einem Mantel feiner Filamente zu unterscheiden. Er ist meistens unregelmäßig begrenzt, während die Sphaeridien rund sind (Abb. 3e, 7a und b). Diese Unterscheidung ist auch mit dem Lichtmikroskop an dicken Kunststoffschnitten möglich. Der Nucleolus ist stark angefärbt und unregelmäßig geformt, während sich die Sphaeridien als kleine, mäßig angefärbte und immer streng sphärische Punkte mit einem hellen Hof darstellen (Abb. 4). Dieses Verhalten von Sphaeridien und Nucleolus ist bei Färbung mit Azur-II-Methylenblau, mit Toluidinblau-Pyronin und mit GiemsaLösung bei Einbettung in Vestopal W, Epon 812 oder Araldit völlig gleich. Daß es sich bei den von einem hellen Hof umgebenen Punkten tatsächlich um die Sphaeridien handelt, konnten wir durch Untersuchung alternierender Dünn- und Dickschnitte im Elektronen- und im Lichtmikroskop feststellen (HORSTMANN und BÜTTNER, 1967, Abb. 5). Allerdings lassen sich die kleineren Sphaeridien mit dem Lichtmikroskop nicht sicher erfassen, so daß quantitative Unter-

Abb. 3a—e. Sphaeridien in den Zellkernen der Maus. a Aus einem Lymphocyten in der Milz eines gesunden Tieres. b Aus einer parasitenhaltigen Kupfferschen Sternzelle nach experimenteller Malariainfektion mit *Plasmodium berghei*. c—e Sphaeridien in den Kernen von Leberparenchymzellen bei experimenteller Malaria. Vergr. a, c—e 25 000fach; b 50 000fach

suchungen dem Elektronenmikroskop vorbehalten bleiben müssen. In Lymphknotenausstrichen nach Methanolfixierung und Giemsa-Färbung und in verschiedenen präparierten Paraffinschnitten von sicher reichlich Sphaeridien enthaltendem Material ließen sie sich bisher lichtmikroskopisch nicht nachweisen.

Die Sphaeridien sind von anderen Kerneinschlüssen durch die Filamente des Externum zu unterscheiden, die auch den membranösen Typ außen umgeben.

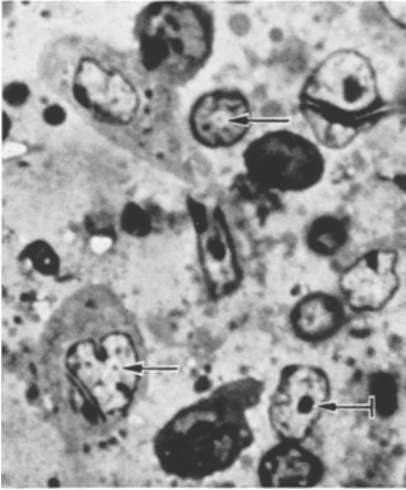


Abb. 4. Sphaeridien (←, ←) und Nucleoli (←) in Lymphknotenzellen eines Rindes bei experimenteller Infektion mit dem Erreger des Ostküstenfiebers (*Theileria parva*) im lichtmikroskopischen Bild. Eponschnitt mit Azur-II-Methylenblau gefärbt. Vergr. 1500fach

Die meisten anderen Kerneinschlüsse sind zudem von einer echten Elementarmembran umgeben.

Die Sphaeridien wurden in allen Geweben festgestellt. Sehr häufig sind sie in den verschiedenen Zellen der Bindegewebsreihe zu sehen: Reticulumzellen, Lymphocyten, Kupffersche Sternzellen, Plasmazellen, Endothelzellen, Fibrocyten und Reticulocyten. In den Granulocyten des peripheren Blutes haben wir sie bisher nicht eindeutig feststellen können. Falls sie auch in deren Zellkernen vorkommen, sind sie jedenfalls sehr viel seltener als in den Lymphocyten des peripheren Blutes. In den glatten Muskelzellen haben wir sie reichlich gefunden, bisher aber nicht in der quergestreiften Muskulatur. Im Nervengewebe kommen sie in peripheren Ganglienzellen des Grenzstranges des Sympathicus vor, im Ganglion semi-

lunare des Trigeminus (BEAVER u. Mitarb., 1965), in den zentralen Ganglienzellen des Corpus geniculatum laterale (GLEES u. Mitarb., 1967), in der Neurohypophyse (BARER und LEDERIS, 1966), im Riechepithel (WEBER und FROMMES, 1963) und in zentralen Gliazellen der Area postrema und der Epiphyse (WARTENBERG, persönliche Mitteilung). In allen bisher untersuchten Epithelien und Drüsenzellen haben wir Sphaeridien gefunden, besonders viele in den Zellen der inkretorischen Organe. Aber auch in Leber, Niere, Nebenhoden, Schleimhäuten und in der Epidermis konnten wir sie feststellen. BEHNKE und MOE (1964) beobachteten sie in Panethzellen im Dünndarm und MOSCHNER (persönliche Mitteilung) im Epithel der Kieferhöhle. Die Häufigkeit ist in den einzelnen Organen und Geweben sehr unterschiedlich. Ihr Vorkommen ist unabhängig vom Alter. In den Lymphknoten bei 11 Wochen alten Embryonen sind sie so häufig wie bei Greisen. Auch in primären Zellkulturen der Nieren konnten wir sie nachweisen; BIERWOLF und THORMANN (1965) berichten über ihr Vorkommen in den permanenten HeLa- und FI-Zellen.

Die Verbreitung der Sphaeridien bei den höheren Wirbeltieren ist sehr groß. Die folgende Aufstellung gibt die verschiedenen Zellen und Gewebe wieder, in

denen die Sphaeridien bei gesunden Menschen und Tieren eindeutig festgestellt worden sind. Die Fundstellen in pathologisch veränderten Organen sind hier nicht angegeben.

### Mammalia

PRIMATES. *Mensch*. Retikulumzelle [5, 8, 9], Lymphocyt [8, 9], Plasmazelle [8, 9], Makrophage [5, 8], Fibrocyt [6, 9], Endothelzelle [8, 9], Nebenhodenepithel [16], Uterusschleimhaut [10], foetales Nierenepithel [6, 10], Fl-Zellen des Amnion [6], Cytotrophoblast der Placenta [9], Kieferhöhlenschleimhaut [20], Nebennierenrinde [9], Schilddrüse [10], Epidermis [10], glatte Muskelzellen aus der Wand des Ductus epididymidis [14], Ganglienzelle aus dem Ganglion semilunare [3].

*Rhesusaffe (Macaca mulatta)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10], Fibrocyt [10], Nierenepithel [9].

*Grüne Meerkatze (Cercopithecus aethiops)*. Retikulumzelle [9], Lymphocyt [9], Plasmazelle [10].

*Totenköpfchen (Saimiri spec.)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10], Nierenepithel [21], Gliazelle aus der Area postrema [21].

ARTIODACTYLA. *Rind (Bos taurus)*. Retikulumzelle [9], Lymphocyt [9, 22], Endothelzelle [1, 9, 22], Fibrocyt [9, 22], Nierenepithel, Hauptstück [9, 22], Adenohypophyse [22], Nebennierenrinde [9, 22], Riechepithel [22].

*Schaf (Ovis aries)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10].

*Zwergschwein (Sus spec.)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10].

PERISSODACTYLA. *Pferd (Equus caballus)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10], Plasmazelle [10].

CARNIVORA. *Hund (Canis familiaris)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10], Reticulocyt [10], Fibrocyt [17], Endothelzelle [10, 17], Nebenhodenepithel [15], sympathische Ganglienzelle [17] und Schwannsche Zelle aus dem Grenzstrang [17].

*Katze (Felis domestica)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10], Plasmazelle [10], sympathische Ganglienzelle [9], Gliazelle aus der Area postrema [21].

*Iltis (Putorius putorius)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10], Plasmazelle [10], Endothelzelle [10], Nebennierenrinde [10].

LAGOMORPHA. *Kaninchen (Oryctolagus cuniculus)*. Retikulumzelle [9], Lymphocyt [9], Endothelzelle [9], Uterusschleimhaut [10], Hardersche Orbitaldrüse [11], Adenohypophyse [9], glatte Muskelzelle aus dem Uterus [9], Pituiocyt [2].

RODENTIA. *Meerschweinchen (Cavia porcellus)*. Retikulumzelle [9], Lymphocyt [9], Nierenepithel, Hauptstück [10].

*Goldhamster (Mesocricetus auratus)*. Retikulumzelle [9], Fibroblast [7, 10], Lymphocyt [9], Plasmazelle [18], Leberepithel [9, 18], Pankreas [18].

*Maus (Mus musculus)*. Retikulumzelle [9], Lymphocyt [9], Kupffersche Sternzelle [10], Leberepithel [10].

*Ratte (Rattus rattus)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10, 23], Kupffersche Sternzelle [13], intercapillare Zellen aus dem Nierenglomerulum [12, 19], Panethzelle aus dem Dünndarm [4], Leberepithel [13], glatte Muskelzelle aus dem Uterus [10].

INSECTIVORA. *Igel (Erinaceus europaeus)*. Retikulumzelle [9], Lymphocyt [9], Plasmazelle [10], Leberepithel [9], Nebennierenrinde [9], Schwannsche Zelle aus dem Grenzstrang [9].

*Maulwurf (Talpa europaea)*. Retikulumzelle [9], Lymphocyt [9].

### Aves aus fünf verschiedenen Ordnungen

*Haustaube (Columba livia)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10].

*Höckerschwan (Cygnus olor)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10], Nebenniere [10].

*Lachmöve (Larus ridibundus)*. Lymphocyt [10], Nebenniere [10].

*Haushuhn (Gallus domesticus)*. Chorionallantoismembran [10].

*Hausspatz (Passer domesticus)*. Retikulumzelle [10], Lymphocyt [10].



*Reptilia aus zwei verschiedenen Ordnungen*

*Sumpfschildkröte (Emys orbicularis)*. Milzzelle [10], Nebenniere [10].

*Schelltopusik (Ophisaurus apodus)*. Milzzelle [10], Nebenniere [10].

*Madagassischer Taggecko (Phelsuma madagascariensis)*. Milzzelle [10].

Die in Klammern angefügten Zahlen beziehen sich auf die folgenden Autoren: 1. ANDERSON, 1965; 2. BARER und LEDERIS, 1966; BEAVER u. Mitarb., 1965; 4. BEHNKE und MOE, 1964; 5. BERNHARD und LEPLUS, 1964; 6. BIERWOLF und THORMANN, 1965; 7. BONNEAU u. Mitarb., 1967; 8. BROOKS und SIEGEL, 1967; 9. BÜTTNER und HORSTMANN, 1967; 10. BÜTTNER und HORSTMANN, diese Arbeit; 11. DÜLLMANN und LIERSE, pers. Mitt., 1966; 12. FARQUHAR und PALADE, 1962; 13. HERDSON u. Mitarb., 1964; 14. HOLSTEIN, pers. Mitt., 1966; 15. HORSTMANN, 1965; 16. HORSTMANN u. Mitarb., 1966; 17. ISHIKAWA, 1964; 18. JONES und FAWCETT, 1966; 19. LATTI und MAUNSBACH, 1962; 20. MOSCHNER, pers. Mitt., 1967; 21. WARTENBERG, pers. Mitt., 1967; 22. WEBER und FROMMES, 1963; 23. ZUCKER-FRANKLIN u. Mitarb., 1966).

Bei Amphibien und Fischen fanden wir bisher keine Sphaeridien. Dagegen konnte BÜTTNER (1968b) an der wachsenden Wurzelspitze der Küchenzwiebel (*Allium cepa*) die Befunde von LAFONTAINE (1965) im Wurzelgewebe verschiedener Blütenpflanzen bestätigen. Die von LAFONTAINE als „light spherules“ bezeichneten Karyoplasmastrukturen entsprechen morphologisch den Sphaeridien der Vögel und Reptilien. Sie bestehen im wesentlichen aus einem Knäuel sehr feiner Filamente in das gar keine oder nur sehr wenige Granula eingelagert sind. Von den übrigen Bestandteilen des Karyoplasmas sind sie gut zu unterscheiden. Diese Befunde zeigen schon, daß es sich bei den Sphaeridien um eine sehr weit verbreitete Kernstruktur handelt. Weitere Untersuchungen bei den bisher nicht berücksichtigten Tier- und Pflanzengruppen sind erforderlich.

Die geschilderte weite Verbreitung der Sphaeridien in fast allen Geweben einer größeren Anzahl verschiedenartiger Lebewesen macht es unwahrscheinlich, daß die Sphaeridien Zeichen cytopathologischer Prozesse sind, wie verschiedentlich gesagt worden ist (ZELICKSON, 1962; BELLONE u. Mitarb., 1964; GAY PRIETO u. Mitarb., 1964; ISHIKAWA, 1964). Um dieser Frage nachzugehen, haben wir verschiedene Erkrankungen vergleichend untersucht. Während die Angaben in der Literatur sich vorwiegend auf Krankheiten unklarer Ätiologie beziehen, wie Neoplasien und Dermatosen, haben wir uns zunächst den ätiologisch geklärten Infektionskrankheiten zugewandt.

In der Goldhamsterleber sind 9 Wochen nach der Infektion mit 260 Cercarien des Erregers der menschlichen Darmbilharziose (*Schistosoma mansoni*) zahlreiche Wurmeier zu sehen. Sie werden nur durch eine dünne, durch Fortsätze der Eischale aufgelockerte Basalmembran von den Leberparenchymzellen getrennt. An diesen Stellen hat noch keine Einwanderung von Bindegewebszellen stattgefunden. Diese Eier stellen das eigentliche pathogene Agens dar und es ist anzunehmen, daß die darin befindlichen Miracidien Substanzen ausscheiden, die toxisch zu einer Zellschädigung führen. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung zeigen die den Eiern benachbarten Leberparenchymzellen eine unregelmäßige Anordnung und Verminderung des ribosomenbesetzten endoplasmatischen Retikulums und vermehrt Lysosomen, wie es auch STENGER u. Mitarb. (1967) bei der Maus 11 Wochen post infectionem beobachteten. Die Kerne zeigen eine Betonung des randständigen Chromatins und aufgelockerte Stellen im Zentrum. In den Kernen finden sich regelmäßig filamentöse und granuläre Sphaeridien (Abb. 1), die aber keinerlei Unterschiede hinsichtlich der Morphologie oder der Quantität gegenüber den nicht infizierten Kontrolltieren erkennen lassen.

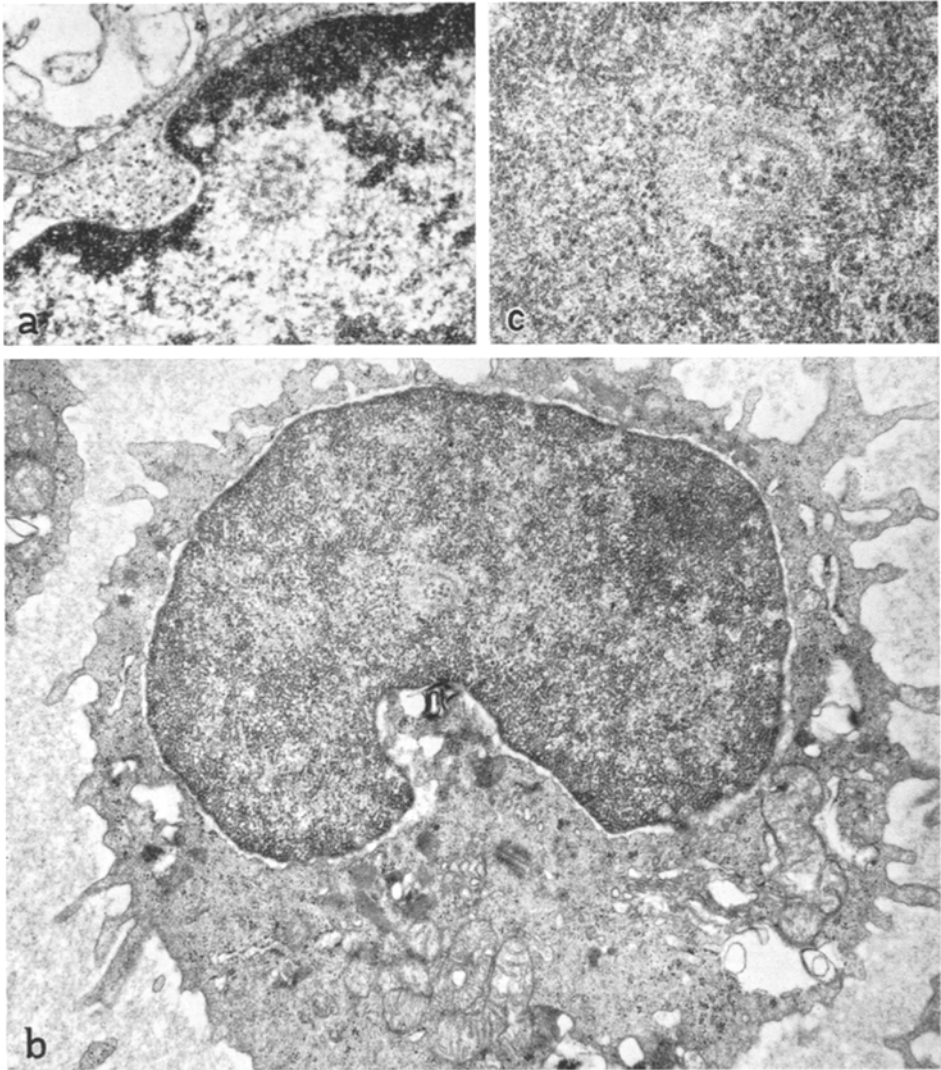


Abb. 5a—c. Sphaeridien in Lymphocytenkernen des Menschen. a Eines gesunden Menschen. b Atypischer Lymphocyt bei infektiöser Mononukleose. c Ausschnitt aus b. Vergr. a und c 50000fach; b 20000fach

Bei den mit dem Erreger einer Nagetiermalaria (*Plasmodium berghei*) infizierten Mäusen sind bei massiver Parasitämie die Zellen des reticuloendothelialen Systems in Milz und Leber verändert. Die Milzzellen und die Kupfferschen Sternzellen enthalten reichlich phagocytierte, parasitenhaltige Erythrocyten und Pigment. In den Zellkernen des RES sind in Milz und Leber regelmäßig Sphaeridien zu sehen, die sich aber nicht von denen der gesunden Mäuse unterscheiden (Abb. 3a und b). Die Schädigung der Leberparenchymzellen erfolgt nicht direkt durch die Parasiten, sondern nach der Auffassung von MAEGRAITH (1965) indirekt vor-

wiegend durch toxisch bedingte Herabsetzung der Durchblutung und Hemmung der oxydativen Phosphorylierung in den Mitochondrien.

Chromatin und Nucleoli der Leberparenchymzellen zeigen bei der elektronenmikroskopischen Beobachtung nichts Auffälliges, aber es finden sich Vacuolen mit mäßig elektronendichten, feinen Granula und kleine von einer Membran umgebene Lipoideinschlüsse. Auch im Cytoplasma gibt es viele Lipoidtröpfchen. Die Sphaeridien sind so zahlreich, daß quantitative Untersuchungen angezeigt erscheinen, um festzustellen, ob es sich um echte Vermehrung handelt. In einzel-

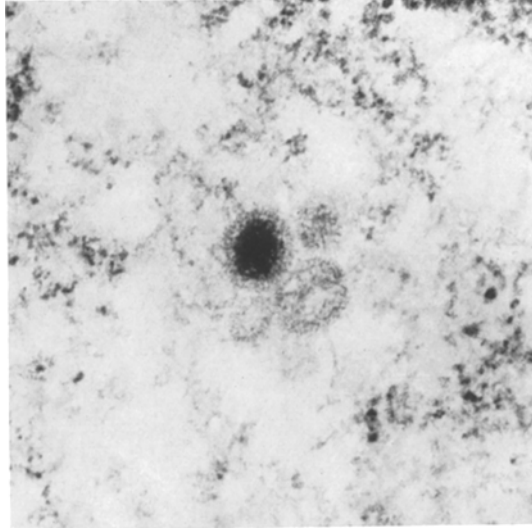


Abb. 6. Filamentöses und granuläres Sphaeridion aus einer stark virushaltigen Zelle der Chorioallantoismembran eines 15 Tage alten Hühnerembryo 5 Tage nach der Infektion mit Hühnerpockenvirus. Vergr. 50000fach

nen Sphaeridien sind kleine Vesikel zu finden (Abb. 3c und d). Insgesamt ergibt sich aber keine kennzeichnende Abweichung von ihrer normalen Morphologie.

Beim Ostküstenfieber der Rinder kommt es zu einer massiven Vermehrung der Theilerien in den stark vermehrten Zellen des RES (BÜTTNER, 1967). Auch hier zeigen die zahlreich zu beobachtenden Sphaeridien (Abb. 4) keinerlei Besonderheiten, doch ist es wahrscheinlich, daß sie vermehrt auftreten. Ähnlich verhält es sich bei schwer kranken Hunden nach Infektion mit Babesien und bei Hauspatzen, die mit *Lankesterella garnhami* infiziert waren.

Bei der durch eine Virusinfektion hervorgerufenen infektiösen Mononukleose des Menschen finden sich im Blut zahlreiche mononucleäre Zellen, bei denen es sich um stimulierte Lymphocyten mit hoher proliferativer Aktivität handelt (LENNERT, 1966). Diese Zellen sind nicht spezifisch für die infektiöse Mono-

Abb. 7a—e. Sphaeridien in Epithelzellen des Menschen. a Sphaeridien mit teilweise dicht gepackten und teilweise disseminierten Granula im Internum, Cervixschleimhaut einer klinisch und histologisch gesunden 35jährigen Frau. b Aus einem uterinen Plattenepithelcarcinom einer 26jährigen Frau. c—e Aus einem vorwiegend soliden, teils drüsigen Milchgangscarcinom einer 36jährigen Frau. In a und b sind unter den Sphaeridien die Nucleoli zu erkennen.

Vergr. a und b 25000fach; c 10000fach; d und e 50000fach

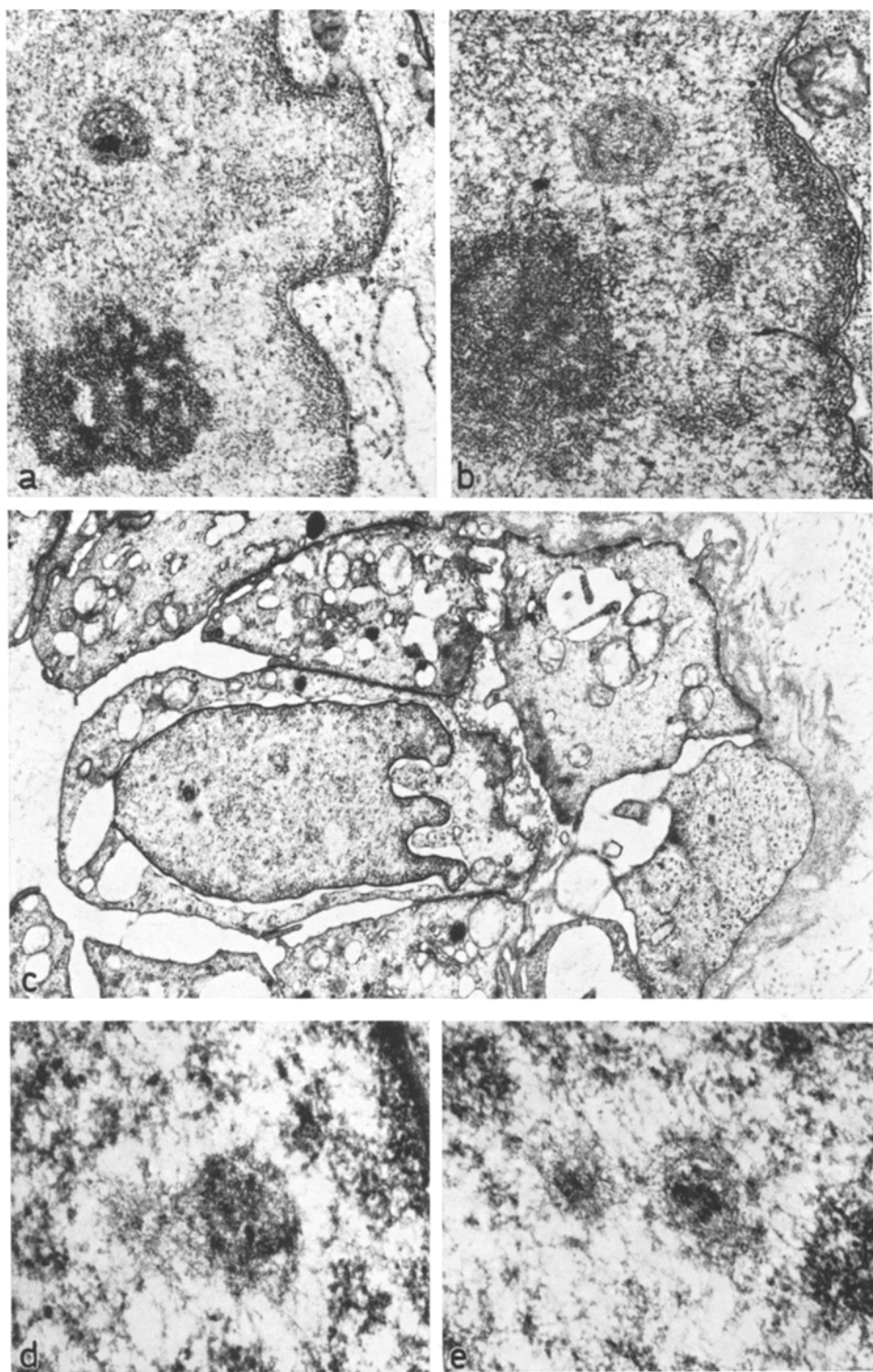


Abb. 7 (Legende s. S. 152)

nukleose, denn sie finden sich in geringerer Anzahl auch bei anderen Viruserkrankungen wie Röteln, Masern, Zoster und Hepatitis, weshalb LITWINS und LEIBOWITZ (1951) sie als „virioocytes“ bezeichnet haben. Um zu prüfen, ob diese stimulierten Lymphocyten eine Änderung hinsichtlich der Morphologie der Sphaeridien erkennen lassen, haben wir diese Zellen bei einem an infektiöser Mononukleose erkrankten Kind untersucht, bei dem sich 20600 Leukocyten mit 60% atypischen Lymphocyten fanden, also ein überdurchschnittlich hoher Prozentsatz. In einzelnen dieser atypischen mononucleären Zellen waren eindeutig Sphae-

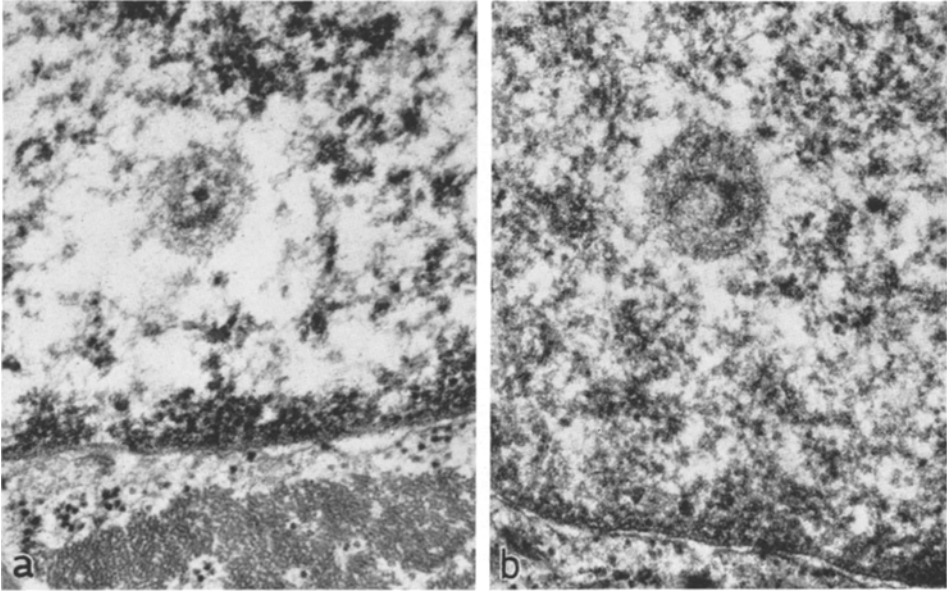


Abb. 8a u. b. Sphaeridien in der Epidermis a eines hautgesunden Menschen und b aus einer Psoriasis vulgaris-Efflorescenz. Vergr. 50000fach

ridien vom granulären Typ zu beobachten (Abb. 5b und c), es ergaben sich jedoch hinsichtlich der Morphologie und Quantität keinerlei Differenzen im Vergleich zu normalen Lymphocyten im peripheren Blut oder im Lymphknoten einer größeren Anzahl gesunder Menschen (Abb. 5a). — Während es sich bei der infektiösen Mononukleose um eine Erkrankung mit einem unbekannten Virus handelt, stellen die mit Hühnerpockenvirus infizierten 15 Tage alten Hühnerembryonen ein besser überschaubares System dar. Die gesamte Virusvermehrung findet bei den Pockenviren ausschließlich im Cytoplasma statt. Wenn im Kern in seltenen Fällen einzelne Virionen zur Beobachtung gelangen, so sind sie aus dem Cytoplasma sekundär eingeschleußt worden. Im Cytoplasma der Zellen finden sich alle Stadien einer intensiven Virusvermehrung. Die in den Kernen dieser Zellen zu beobachtenden Sphaeridien (Abb. 6) stellen mit Sicherheit kein Virusmaterial dar, sondern sind zelleigene Strukturen des Karyoplasma. Sie weisen keine Besonderheiten gegenüber der Norm auf.

Da die Sphaeridien wiederholt in menschlichen Neoplasmen beschrieben worden sind (Tabelle 1), haben wir unbestrahlte *Genitalcarcinome* der Frau aus dem

Uterus und aus der Brust untersucht. Wir konnten in den spezifischen Carcinomzellen ebenso wie in den umgebenden Bindegewebszellen Sphaeridien vom filamentösen und vom granulären Typ beobachten (Abb. 7b—e). Manche Kerne enthalten in einem Schnitt 4—5 Sphaeridien, doch war die Häufigkeit nach unseren orientierenden Untersuchungen nicht größer als beispielsweise in der Uterusschleimhaut klinisch und histologisch gesunder Frauen. Auch hinsichtlich ihrer Morphologie unterscheiden sie sich nicht von denen gesunder Uterusschleimhaut (Abb. 7a).

In der menschlichen Epidermis konnten wir regelmäßig  $0,3\text{--}0,8\ \mu$  große filamentöse und granuläre Sphaeridien in den Efflorescenzen bei Patienten mit Lichen ruber planus und Psoriasis vulgaris feststellen (Abb. 8b). Anfänglich gelang es uns nicht, sie in osmiumfixierten Schabepreparaten gesunder Haut zu finden. Nachdem wir aber sorgfältig fixierte Biopsien gesunder Haut aus frischen Operationswunden in die Untersuchungen einbezogen, konnten wir morphologisch gleiche Sphaeridien auch in der gesunden menschlichen Epidermis beobachten (Abb. 8a). Sowohl in der Haut gesunder Menschen wie in der von Patienten mit Lichen ruber planus und Psoriasis finden sich Sphaeridien mit wenigen bis zu einigen hundert meist dicht gepackten Granula (BÜTTNER und HORSTMANN, 1967; Abb. 6a und b). Sie sind aber offensichtlich seltener als in anderen Organen, wie z.B. Lymphknoten und Nebenniere, und anscheinend auch schwerer zu finden als in der stärker proliferierenden und dickeren Epidermis bei der Psoriasis.

### Diskussion

Unsere Untersuchungen zeigen, daß sich im Interphasenkern neben dem Chromatin, dem Nucleolus, verschiedenen Granula und Einschlüssen von cytoplasmatischem Material in den meisten Organen des Menschen und der Säugetiere regelmäßig eine morphologisch definierte Karyoplasmadifferenzierung findet, die wir als Sphaeridien bezeichnet haben (BÜTTNER und HORSTMANN, 1967). Die Sphaeridien kommen nicht nur bei den Säugetieren regelmäßig vor, sondern auch in verschiedenen Geweben von fünf Vogelarten und drei Reptilienspecies aus systematisch unterschiedlichen Ordnungen. Und auch in den Wurzelspitzen verschiedener Blütenpflanzen konnten morphologisch den Sphaeridien entsprechende Strukturen beobachtet werden. Ähnliche Strukturen in den Kernen von Protozoen sollten noch einmal überprüft werden [DANIELS u. Mitarb. (1966) bei der Amoebe *Pelomyxa palustris* und ELLIOTT u. Mitarb. (1962) im Makronucleus des Ciliaten *Tetrahymena pyriformis*].

Die weite Verbreitung läßt vermuten, daß es sich um eine normale Arbeitsstruktur des Zellkernes handelt und nicht um eine exogen bedingte Formation. Diese Strukturen sind auch in embryonalen Geweben mit lebhafter Zellteilung bei Mensch und Tier und in der schnell wachsenden Zone der Wurzelspitze von Blütenpflanzen vorhanden; es ist also nicht anzunehmen, daß sie ein Zeichen degenerativer Prozesse sind. Das regelmäßige Vorkommen der Sphaeridien in so verschiedenartigen Geweben und Organismen spricht auch gegen eine direkte Verursachung durch cytopathische Prozesse. Es ist im Rahmen der vielen Beschreibungen dieser Befunde schon an einzelnen Beispielen darauf hingewiesen worden, daß sich die Sphaeridien nicht nur in den betreffenden erkrankten Organen sondern auch in den gesunden Kontrollen finden. Es erschien uns jedoch

wichtig, an einer Anzahl möglichst verschiedenartiger Erkrankungen zu demonstrieren, daß die Morphologie der Sphaeridien in gesunden und erkrankten Geweben keine Unterschiede erkennen läßt. Bezieht man die in der Literatur weit verstreuten Angaben mit in die Betrachtung ein, so läßt sich diese Feststellung noch weiter erhärten:

*Die meisten Sphaeridien in pathologisch veränderten Zellen stammen von Krankheiten unklarer Ätiologie*, was sich leicht durch das Bemühen erklären läßt, das pathogene Agens aufzuspüren. In diesem Bestreben wurde wiederholt nach Viren gesucht. ZELICKSON (1962) und GAY PRIETO u. Mitarb. (1964) haben in den Keratoakanthomen des Menschen Sphaeridien beobachtet und halten sie für Viren, die diese Erkrankung verursachen. BELLONE u. Mitarb. (1964) und CAPUTO und BELLONE (1966) nehmen auf Grund ihrer Untersuchungen an verschiedenen Hauterkrankungen an, daß die Sphaeridien eine unspezifische Reaktion auf Viren seien. Sie weisen dabei besonders auf die granularen Sphaeridien hin, die sie bei dem vernarbenden Schleimhautpemphigus (bullous muco-synechial and atrophic dermatitis) gesehen haben. Bei einer Nachuntersuchung von 17 Keratoakanthomen stellten BIERWOLF und THORMANN (1965) in 13 Tumoren Sphaeridien fest, die sie in der normalen Haut vermißten. Auf Grund ihrer vergleichenden Untersuchungen an anderen Geweben lehnen sie jedoch die Virusnatur der Sphaeridien und ihre pathogenetische Bedeutung ab. Zu derselben Auffassung gelangen FORCK u. Mitarb. (1965) und NASEMANN (1965) bei der Diskussion ihrer Beobachtungen am Keratoakanthom bzw. am Condyloma acuminatum. Unsere Untersuchungen bestätigen diese Ansicht durch die Feststellung von sowohl filamentösen wie auch granulären Sphaeridien in der gesunden menschlichen Haut. Sieht man von den Beobachtungen der mit der damaligen Technik nicht gut aufzulösenden dichten, irregulären Körperchen in mit Molluscum contagiosum-Virus infizierten Zellen ab (DOURMASKHIN und FEBVRE, 1958; DOORMASHKIN und BERNHARD, 1959), so wurden die Sphaeridien in wirklich virusinfizierten Zellen erstmalig eindeutig von dem Bernhardschen Arbeitskreis in Zellkernen aus der Affennierengewebekultur nach Infektionen mit dem SV 40-Virus abgebildet, das sich im Kern vermehrt (GRANBOULAN u. Mitarb., 1963). Wir konnten zeigen, daß die Sphaeridien auch ohne Virusinfektion in gezüchteten Affennierenzellen ebenso wie in der Niere von Mensch, Rind und Meerschweinchen vorkommen, also nicht von der Virusinfektion abhängig sind. In derselben Arbeit haben wir dargelegt, daß es sich auf Grund der Verbreitung und Morphologie bei den Sphaeridien nicht um Virusmaterial handeln könne (BÜTTNER und HORSTMANN, 1967). Auch BERNHARD ist heute der Ansicht, daß die Sphaeridien keine Virionen sind (persönliche Mitteilung, 1966). Die Auffassung von der Virusgenese der Sphaeridien braucht also künftig nicht mehr berücksichtigt zu werden. Um Mißverständnissen vorzubeugen, sei hier nochmals betont, daß eine Vermehrung oder Verminderung der Sphaeridien im Rahmen einer virusbedingten Stoffwechseländerung der infizierten Zelle mit dieser Feststellung nicht ausgeschlossen werden soll.

Wiederholt sind die Sphaeridien in Neoplasien des lymphatischen Systems beobachtet worden (Tabelle 1) besonders häufig bei der Lymphogranulomatose. Dem Hinweis von BROOKS und SIEGEL (1967), wonach sie die aggregierten Formen nur bei der Lymphogranulomatose beobachten konnten und diese Sphaeridien deswegen als morphologisch abnorm betrachten, müssen wir auf Grund

Tabelle 1. *Sphaeridienbeobachtungen in Neoplasien*

Krankheit	Species	Autoren
<i>Benigne Bindegewebstumoren</i>		
Meningeom	Mensch	ROBERTSON (1964)
<i>Maligne Bindegewebsneoplasien</i>		
Lymphogranulomatose	Mensch	HINGLAIS-GUILLAUD u. Mitarb. (1961) OGAWA (1962) KRISHAN u. Mitarb. (1966). PAVLOVSKY (1966) BROOKS und SIEGEL (1967)
Lymphosarkom	Mensch	BERNHARD und LEPLUS (1964)
Malignes Lymphom	Mensch	BROOKS und SIEGEL (1967)
Plasmocytom	Mensch	BESSIS u. Mitarb. (1963)
Retothelsarkom	Mensch	BIERWOLF und THORMANN (1965)
Kindliche Leukämie	Mensch	KRISHAN u. Mitarb. (1966)
Chronische lymphatische Leukämie	Mensch	BROOKS und SIEGEL (1967)
Lymphatische Leukämie	Maus	BESSIS und THIERY (1962)
Retikulumzell-Leukämie	Maus	BIERWOLF und THORMANN (1965)
Impftumor mit menschlichen Leukämiezellen (CCRF-CEM)	Goldhamster	KRISHAN u. Mitarb. (1966)
Polyomavirusinduzierter und dann transplantierte, virus- freier Fibroblastentumor	Goldhamster	BONNEAU u. Mitarb. (1967)
<i>Maligne epitheliale Neoplasien</i>		
Plattenepithelcarcinom des Uterus	Mensch	HINGLAIS-GUILLAUD u. Mitarb. (1961) BÜTTNER und HORSTMANN (diese Arbeit)
Bronchialadenom	Mensch	KRISHAN u. Mitarb. (1966)
Lebercarcinom	Mensch	ALTMANN, H.-W. (pers. Mitt., 1967)
Mammacarcinom	Mensch	HAGUENAU (1960) BÜTTNER und HORSTMANN (diese Arbeit)
VX2-Carcinom vom Shopeschen Papillom abgeleitet	Kaninchen	THÉ u. Mitarb. (1960)
Melanom in der Zellkultur	Goldhamster	BERNHARD und GRANBOULAN (1963)

unserer Erfahrungen widersprechen. Wir haben diese Formen (Abb. 2) in sehr unterschiedlichen Geweben bei verschiedenen gesunden Tieren und vereinzelt auch beim Menschen gesehen. Wenn die Sphaeridien besonders häufig in den Tumoren des lymphatischen Systems beschrieben wurden, so entspricht das den gehäuften Funden in Retikulumzellen und Lymphocyten gesunder Organismen (WEBER und FROMMES, 1963; BERNHARD und LEPLUS, 1964; WEBER und JOEL, 1966; ZUCKER-FRANKLIN u. Mitarb., 1966; BROOKS und SIEGEL, 1967; BÜTTNER und HORSTMANN, 1967; BÜTTNER, 1968 a u. b). BONNEAU u. Mitarb. (1967) sahen die Sphaeridien in ursprünglich polyomavirusinduzierten und dann transplantierten virusfreien Fibroblastentumoren beim Goldhamster. Sie weisen jedoch darauf



hin, daß sie auch in den Fibroblasten von normalen Goldhamstern diese Strukturen fanden, was unseren Beobachtungen entspricht. ROBERTSON (1964) sah in fünf menschlichen Meningeomen neben typischen Kerneinschlüssen auch Sphaeridien, die er in normalen Meningen nicht fand; doch meint der Autor selbst, daß er nicht hinreichend normales Gewebe untersucht habe. Die Sphaeridien wurden nicht nur in Bindegewebstumoren sondern auch in epithelialen Neoplasien gefunden. In der Tabelle 1 wurden nicht ganz eindeutige Beobachtungen aus den fünfziger Jahren nicht aufgeführt. Aus unseren eigenen Beobachtungen wissen wir, daß sich die in den Carcinomen beobachteten Sphaeridien morphologisch von denen gesunder Menschen nicht unterscheiden. Sie stellen also keine für das Carcinom spezifischen Strukturen dar.

Die Tabelle 2 gibt die uns bekannten Befunde von Sphaeridien bei dermatologischen Erkrankungen wieder. Durch die ersten Untersuchungen von ZELICKSON und LYNCH (1961) angeregt, wurde das Keratoakanthom am häufigsten

Tabelle 2. *Sphaeridienbeobachtungen in der menschlichen Epidermis*

Gesundheit oder Krankheit	Autoren
Gesunde Haut	BÜTTNER und HORSTMANN (diese Arbeit)
Artefizielle Läsion beim Neurotiker	BURKET und CAPLAN (1964)
Zoster	BELLONE u. Mitarb. (1964)
Verruca vulgaris	BELLONE u. Mitarb. (1964)
Condyloma acuminatum	NASEMANN (1965)
Erythema multiforme bullosum	BELLONE u. Mitarb. (1964)
Dermatitis herpetiformis (Duhring)	BELLONE u. Mitarb. (1964)
Pemphigus vulgaris, Pemphigus vegetans, Pemphigus seborrhoicus	BELLONE u. Mitarb. (1964)
Vernarbender Schleimhautpemphigus („bullous muco-synechial and atrophic dermatitis“)	CAPUTO und BELLONE (1966)
Epidermolysis bullosa congenita	BELLONE u. Mitarb. (1964)
Psoriasis vulgaris	BRODY (1962a und b) BÜTTNER und HORSTMANN (1967)
Lichen ruber planus	SWANBECK und THYRESSON (1964) BÜTTNER und HORSTMANN (1967)
Keratoakanthom	ZELICKSON und LYNCH (1961) ZELICKSON (1962) GAY PRIETO u. Mitarb. (1964) BIERWOLF und THORMANN (1965) FORCK u. Mitarb. (1965)
„Multiple self-healing epithelioma (FERGUSON-SMITH)“	BURKET und CAPLAN (1964)

untersucht. Aber auch bei anderen Erkrankungen ließen sich die Sphaeridien wiederholt nachweisen. Dabei handelt es sich vorwiegend um ätiologisch ungeklärte Krankheiten, aber auch um eindeutige Viruserkrankungen wie den Zoster und artefizielle Läsionen in gesunder Haut bei Neurotikern (BURKET und CAPLAN,

Tabelle 3. *Sphaeridienbeobachtungen in Leberparenchymzellen*

Species	Gesundheit oder Krankheit	Autoren
Mensch	Carcinom	ALTMANN, H.-W. (pers. Mitt., 1967)
Goldhamster	gesund	JONES und FAWCETT (1966)
	Bilharziose	BÜTTNER und HORSTMANN (1967) BÜTTNER und HORSTMANN (diese Arbeit)
Ratte	gesund	HERDSON u. Mitarb. (1964)
	Hunger	HERDSON u. Mitarb. (1964) DAVID (1964a und b)
Maus	gesund	BÜTTNER und HORSTMANN (diese Arbeit)
	Malaria	BÜTTNER und HORSTMANN (diese Arbeit)
Igel	gesund	BÜTTNER und HORSTMANN (1967)

1964). Die Sphaeridien sind ein Bestandteil des normalen Epidermiszellkernes, wie auch unsere Untersuchungen an der gesunden Haut zeigen. Um diese Verhältnisse noch an einem drüsigen Organ zu demonstrieren, gibt die Tabelle 3 die Beobachtungen in Leberparenchymzellen wieder. Die Skala reicht von der Leber gesunder Organismen über die Leber bei Hungerzuständen und Infektionskrankheiten bis zu den Neoplasien. Die Morphologie ist immer gleich, wie wir schon bei der Beschreibung bei Bilharziose und Malaria dargelegt haben.

Die obigen Angaben über die Sphaeridienbeobachtungen in der Literatur erheben keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Sphaeridien werden häufig nur als Nebenfunde am Rande erwähnt und sind deshalb schwer zu erfassen. Über die Bedeutung der Sphaeridien wissen wir bisher sehr wenig. Von den elektronendichten Granula des Internum können wir auf Grund ihres Verhaltens bei der Kontrastierung und ihres Fehlens nach Kaliumpermanganatfixierung vermuten, daß sie Nucleinsäuren enthalten. Über die stoffliche Natur der Filamente wissen wir nichts, wir können nur nach dem Verhalten bei der Kontrastierung annehmen, daß sie nicht aus Nucleoproteiden bestehen. Bei der Katze konnte BÜTTNER (1968 a) regelmäßig elektronendichte, kristalloide Einschlüsse im Internum beobachten, von denen wir vermuten, daß es sich um ein im Kern synthetisiertes Protein handelt. WEBER u. Mitarb. (1964) fanden in der Zona fasciculata der Nebenniere des Rindes nach Behandlung mit ACTH größere multivesikuläre Körperchen mäßiger Elektronendichte, die von einer Membran umgeben waren und gar keine oder nur ganz wenige Filamente in der Peripherie enthielten. 14 Tage nach Abschluß der ACTH-Medikation waren ebenso wie in den Kontrolltieren nur noch die üblichen Sphaeridien festzustellen. Die Autoren diskutieren die Entstehung dieser multivesikulären Körperchen aus den Sphaeridien unter dem Einfluß des ACTH. Auch HORSTMANN (1965) und HORSTMANN u. Mitarb. (1966) diskutieren für den Nebenhoden von Hund und Mensch die Entstehung der sehr elektronendichten, homogenen Kernkugeln in den Sphaeridien im Sinne einer Synthese. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, daß Kernkugeln sehr ähnlicher Morphologie auch in den Kernen der durch eine Paraproteinämie charakterisierten Plasmocytome beobachtet worden sind (STOCKINGER, 1962; BRITTIN u. Mitarb., 1963; POLLI u. Mitarb., 1963). Da in den Plasmocytomen

cytomzellen wie in normalen Plasmazellen Sphaeridien vorkommen, ist zu klären, ob hier ein Zusammenhang besteht, der vielleicht weitere Beiträge für eine Proteinspeicherung in den Sphaeridien ergibt. In anderen Fällen scheinen allerdings morphologisch ähnliche Kernkugeln in sphaeridienhaltigen Kernen nicht aus den Sphaeridien, sondern aus Cytoplasmavaginationen zu entstehen, wie es uns an der Hypophyse des Kaninchens am Ende der Schwangerschaft nach zur Zeit laufenden Untersuchungen zu sein scheint.

Das Ziel unserer Bemühungen sollte es sein, durch unsere Untersuchungen im Zusammenhang mit den aus der Literatur bekannten Beobachtungen zu demonstrieren, daß die als *Sphaeridien* bezeichneten Karyoplasmastrukturen in *gesunden und kranken Geweben* die *gleiche Morphologie* besitzen. Sie sind nicht durch irgendeine Erkrankung bedingt, so daß ihnen auch *keine* pathognomonische Bedeutung zukommen kann. Sie sind weder exogenen noch cytoplasmatischen Ursprungs, sondern kerneigene, aktive Karyoplasmastrukturen. Wir stellen die Hypothese auf, daß sich die Sphaeridien als aktive Loci im Karyoplasma für besondere Syntheseleistungen entwickeln und vermuten, daß sie im Dienste einer Proteinsynthese im Kern stehen. Bei der Interpretation der Sphaeridien handelt es sich nicht um ein spezielles Problem im Rahmen irgendeiner spezifischen Erkrankung, nicht um eine Frage der Virus- oder Krebsforschung, sondern um ein Problem der allgemeinen Cytologie. Damit soll der Weg bereitet werden für allgemeine cytologische Untersuchungen über die Bedeutung der Sphaeridien. Hier bieten sich einerseits Versuche mit Hormonen und andererseits Experimente mit spezifischen Hemmstoffen der Protein- oder RNS-Synthese an, wie beispielsweise mit Actinomycin D oder Puromycin. Da die Sphaeridien sehr stabil sind, wie wir aus Beobachtungen an gefrorenen und mit Sand zertrümmerten Zellkernen wissen, erscheint auch der Versuch einer Isolierung nicht aussichtslos.

*Addendum bei der Korrektur.* Seit der Annahme des Manuskriptes sind mehrere Arbeiten erschienen, die Befunde von granulären Sphaeridien in gesunden und kranken menschlichen Geweben mitteilen [NASEMANN, TH., und A. SMIGLA: Münch. med. Wschr. **109**, 1877—1886 (1967); BOUTEILLE, M., S. R. KALIFAT, and J. DELARUE: J. Ultrastruct. Res. **19**, 474—486 (1967); KRISHAN, A., B. G. UZMAN, and E. T. HEADLEY-WHITE: J. Ultrastruct. Res. **19**, 563—572 (1967)]. Damit erweitert sich die Liste der Erkrankungen, bei denen Sphaeridien beobachtet wurden, andere Gesichtspunkte hinsichtlich Struktur und Bedeutung ergeben sich durch die mitgeteilten Befunde jedoch nicht.

### Literatur

- ANDERSON, E.: The anatomy of bovine and ovine pineals. Light and electron microscopic studies. J. Ultrastruct. Res., Suppl. **8**, 1—18 (1965).
- BARER, R., and K. LEDERIS: Ultrastructure of the rabbit neurohypophysis with special reference to the release of hormones. Z. Zellforsch. **75**, 201—239 (1966).
- BEAVER, D. L., H. L. MOSES, and C. E. GANOTE: Electron microscopy of the trigeminal ganglion. Arch. path. **79**, 557—582 (1965).
- BEHNKE, O., and H. MOE: An electron microscope study of mature and differentiating paneth cells in the rat, especially of their endoplasmic reticulum and lysosomes. J. Cell Biol. **22**, 633—652 (1964).
- BELLONE, A. G., R. CAPUTO, e F. CLEMENTI: Sulla presenza di microcorpi intranucleari in cellule epidermiche di dermatosi bollose del gruppo pemfigo. Osservazioni al microscopio elettronico. G. ital. Derm. **105**, 13—36 (1964).

- BERNHARD, W., and N. GRANBOULAN: The fine structure of the cancer cell nucleus. *Exp. Cell Res.*, Suppl. **9**, 19—53 (1963).
- , et R. LEPLUS: Structure fine du ganglion humain normal et malin. Paris: Gauthier-Villars 1964.
- BESSIS, M., J. BRETON-GORIUS, et J. L. BINET: Etude comparée du plasmocytome et du syndrome de Waldenström. Examen au microscope électronique. *Nouv. Rev. franç. Hémat.* **3**, 159—183 (1963).
- , et J. P. THIERY: Etudes au microscope électronique sur les leucémies humaines. II. Les leucémies lymphocytaires. Comparaison avec la leucémie de la souris de souche AK. *Nouv. Rev. franç. Hémat.* **2**, 387—414 (1962).
- BIERWOLF, D., u. TH. THORMANN: Zur Frage der Virusätiologie des Keratoakanthoms. *Derm. Wschr.* **151**, 967—977 (1965).
- BONNEAU, H., J.-P. CESARINI, A.-M. LHERISSON, M. BEREBBI, et J. VARETTE: Structure et ultrastructure comparative des tumeurs induites primitivement par le virus polyome chez le hamster doré et entretenues par transplantation. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **161**, 380—384 (1967).
- BRITTIN, G. M., Y. TANAKA, and G. BRECHER: Intranuclear inclusions in multiple myeloma and macroglobulinemia. *Blood* **21**, 335—351 (1963).
- BRODY, I.: The ultrastructure of the epidermis in psoriasis vulgaris as revealed by electron microscopy. I. The dermo-epidermal junction and the stratum basale in parakeratosis without keratohyalin. *J. Ultrastruct. Res.* **6**, 304—323 (1962a).
- The ultrastructure of the epidermis in psoriasis vulgaris as revealed by electron microscopy. 2. The stratum spinosum in parakeratosis without keratohyalin. *J. Ultrastruct. Res.* **6**, 324—340 (1962b).
- BROOKS, R. E., and B. V. SIEGEL: Nuclear bodies of normal and pathological human lymph node cells: An electron microscopic study. *Blood* **29**, 269—275 (1967).
- BÜTTNER, D. W.: Elektronenmikroskopische Studien der Vermehrung von *Theileria parva* im Rind. *Z. Tropenmed. Parasit.* **18**, 245—268 (1967).
- Sphaeridien mit kristalloiden Einschlüssen in den Zellkernen der Katzenmilz. *Z. Zellforsch.* **84**, 304—310 (1968a).
- Elektronenmikroskopische Beobachtung von Sphaeridien im Karyoplasma der Sauropsidenzelle. *Z. Zellforsch.* (1968b) (im Druck).
- , u. E. HORSTMANN: Das Sphaeridion, eine weit verbreitete Differenzierung des Karyoplasma. *Z. Zellforsch.* **77**, 589—605 (1967).
- BURKET, J., and R. CAPLAN: Multiple self-healing epithelioma. *Arch. Derm.* **90**, 7—11 (1964).
- CAPUTO, R., and A. G. BELLONE: On a new type of intranuclear microbodies, observed in bullous muco-synechial and atrophic dermatitis (ocular pemphigus). *J. invest. Derm.* **47**, 141—146 (1966).
- DANIELS, E. W., E. P. BREYER, and R. R. KUDO: *Pelomyxa palustris* Greeff. II. Its ultrastructure. *Z. Zellforsch.* **73**, 367—383 (1966).
- DAVID, H.: Physiologische und pathologische Modifikationen der submikroskopischen Kernstruktur. I. Das Karyoplasma. Kerneinschlüsse. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **71**, 412—456 (1964a).
- Submikroskopische Ortho- und Pathomorphologie der Leber. Berlin: Akademie-Verlag 1964b.
- DOURMASHKIN, R., and W. BERNHARD: A study with electron microscope of the skin tumor of *Molluscum contagiosum*. *J. Ultrastruct. Res.* **3**, 11—38 (1959).
- , et H. L. FEBVRE: Culture in vitro sur des cellules de la souche HeLa et identification au microscope électronique du virus du *Molluscum contagiosum*. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **246**, 2308—2310 (1958).
- ELLIOTT, A. M., J. R. KENNEDY, and I. J. BAK: Macronuclear events in synchronously dividing *Tetrahymena pyriformis*. *J. Cell Biol.* **12**, 515—531 (1962).
- FARQUHAR, M. G., and G. E. PALADE: Functional evidence for the existence of a third cell type in the renal glomerulus. Phagocytosis of filtration residues by a distinctive "third" cell. *J. Cell Biol.* **13**, 55—87 (1962).
- FORCK, G., H. G. FROMME u. P. JORDAN: Zur Virusätiologie des Keratoakanthoms. *Hautarzt* **16**, 153—155 (1965).

- GAY PRIETO, J. P., RODRIGUEZ PÉREZ, M. RUBIO HUERTOS, and G. JACQUETI: On the virus etiology of keratoacanthoma. *Acta derm.-venereol.* (Stockh.) **44**, 180—185 (1964).
- GLEES, P., M. HASAN, and K. TISCHNER: Ultrastructural features of transneuronal atrophy in monkey geniculate neurones. *Acta neuropath.* (Berl.) **7**, 361—366 (1967).
- GRANBOULAN, N., P. TOURNIER, R. WICKER, and W. BERNHARD: An electron microscope study of the development of SV<sub>40</sub> virus. *J. Cell Biol.* **17**, 423—441 (1963).
- HAGUENAU, F.: Significance of ultrastructure in virus induced tumors. *Nat. Cancer Inst. Monogr.* **4**, 211—249 (1960).
- HERDSON, P. B., P. J. GARVIN, and R. B. JENNINGS: Fine structure changes produced in rat liver by partial starvation. *Amer. J. Path.* **45**, 157—172 (1964).
- HINGLAIS-GUILLAUD, N., R. MORICARD, et W. BERNHARD: Ultrastructure des cancers pavimenteux invasifs du col utérin chez la femme. *Bull. Ass. franç. Cancer* **48**, 283—316 (1961).
- HORSTMANN, E.: Die Kerneinschlüsse im Nebenhodenepithel des Hundes. *Z. Zellforsch.* **65**, 770—776 (1965).
- , u. D. W. BÜTTNER: Weitere Untersuchungen über die als Sphaeridien bezeichneten Karyoplasmastrukturen. *Verh. anat. Ges. (Jena)* 1967 in Marburg, im Druck in *Suppl. Anat. Anz.*
- R. RICHTER u. E. ROOSEN-RUNGE: Zur Elektronenmikroskopie der Kerneinschlüsse im menschlichen Nebenhodenepithel. *Z. Zellforsch.* **69**, 69—79 (1966).
- HYDE, B. B.: Ultrastructure in chromatin. *Progr. Biophys. molec. Biol.* **15**, 129—148 (1965).
- ISHIKAWA, H.: Peculiar intranuclear structures in sympathetic ganglion cells of a dog. *Z. Zellforsch.* **62**, 822—828 (1964).
- JONES, A. L., and D. W. FAWCETT: Hypertrophy of the agranular endoplasmic reticulum in hamster liver induced by phenobarbital (with a review on the function of this organelle in liver). *J. Histochem. Cytochem.* **14**, 215—232 (1966).
- KRISHAN, A., M. M. KASAC, B. G. UZMAN, and E. T. HEDLEY-WHITE: Nuclear bodies: Their structure and presence in some human tumors. *J. Cell Biol.* **31**, 63 A (1966).
- LAFONTAINE, J. G.: A light and electron microscope study of small spherical nuclear bodies in meristematic cells of *Allium cepa*, *Vicia faba* and *Raphanus sativus*. *J. Cell Biol.* **26**, 1—17 (1965).
- LATTA, H., and A. B. MAUNSBACH: Relations of the centrolobular region of the glomerulus to the juxtaglomerular apparatus. *J. Ultrastruct. Res.* **6**, 562—578 (1962).
- LENNERT, K.: Bildung und Differenzierung der Blutzellen, insbesondere der Lymphozyten. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **50**, 163—215 (1966).
- LITWINS, J., and S. LEIBOWITZ: Abnormal lymphocytes ("viriocytes") in virus disease other than infectious mononucleosis. *Acta haemat.* (Basel) **5**, 223—231 (1951).
- MAEGRAITH, B. G.: Oxidative phosphorylation in malaria. *Ann. Soc. belg. Méd. trop.* **45**, 275—286 (1965).
- NASEMANN, T.: Elektronenoptische Beobachtungen an einem Akanthom mit sicherer Virus-ätiologie in Analogie zu den Befunden am Keratoakanthom. *Hautarzt* **16**, 156—158 (1965).
- OGAWA, K.: Elektronenoptische Untersuchungen bei einem Fall von sogenanntem Hodgkin-Sarkom. *Frankfurt. Z. Path.* **71**, 677—693 (1962).
- PAVLOVSKY, A.: Contribution of cytology to the study of lymphopathies. *Acta haemat.* (Basel) **36**, 296—312 (1966).
- POLLI, E., G. LANZAVECCHIA et M. BOSISIO: Sur la présence d'inclusions nucléaires dans les plasmocytes. Étude au microscope électronique de plasmocytes dans un cas de  $\beta_2$ A-Myélome. *Nouv. Rev. franç. Hémat.* **3**, 539—552 (1963).
- ROBERTSON, D. M.: Electron microscopic studies of nuclear inclusions in meningiomas. *Amer. J. Path.* **45**, 835—842 (1964).
- STENGER, R. J., K. S. WARREN, and E. A. JOHNSON: An electron microscopic study of the liver parenchyma and schistosome pigment in murine hepato-splenic schistosomiasis *mansoni*. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* **16**, 473—482 (1967).
- STOCKINGER, L.: Elektronenoptische Darstellung einer Melanoglobulinretention in Plasmazellen des menschlichen Knochenmarks. *J. Cell Biol.* **15**, 131—136 (1962).
- SWANBECK, G., and N. THYRESSON: Electron microscopy of intranuclear particles in lichen ruber planus. A preliminary report. *Acta derm.-venereol.* (Stockh.) **44**, 105—106 (1964).

- THÉ, G. DE, M. RIVIÈRE et W. BERNHARD: Examen au microscope électronique de la tumeur VX<sub>2</sub> du lapin domestique dérivée du papillome de Shope. *Bull. Ass. franç. Cancer* **47**, 569—584 (1960).
- WEBER, A. F., and D. JOEL: Tabular and ultrastructural studies of agranulocytes of the thoracic duct of calves. *Blood* **28**, 266—279 (1966).
- , and St. P. FROMMES: Nuclear bodies: Their prevalence, location, and ultrastructure in the calf. *Science* **141**, 912—913 (1963).
- S. WHIPP, E. USENIK, and S. FROMMES: Structural changes in the nuclear body in the adrenal zona fasciculata of the calf following the administration of ACTH. *J. Ultrastruct. Res.* **11**, 564—576 (1964).
- ZELICKSON, A.: Virus-like particles demonstrated in keratoacanthomas by electron microscopy. *Acta dermat.-venereol. (Stockh.)* **42**, 23—26 (1962).
- , and F. W. LYNCH: Electron microscopy of virus-like particles in a keratoacanthoma. *J. invest. Derm.* **37**, 79—83 (1961).
- ZUCKER-FRANKLIN, D., M. DAVIDSON, and L. THOMAS: The interaction of mycoplasmas with mammalian cells. II. Monocytes and lymphocytes. *J. exp. Med.* **124**, 533—542 (1966).

Dr. D. W. BÜTTNER und Prof. Dr. Dr. E. HORSTMANN  
Anatomisches Institut der Universität  
2000 Hamburg 20, Martinistraße 52