

Zur Frage der Proliferation oestrogenstimulierter Uteri*

HEDI NEMETSCHEK-GANSLER

Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie der Universität Heidelberg
(Prof. Dr. W. DOERR), Arbeitsgruppe Elektronenmikroskopie

Ein gegangen am 14. August 1967

Regarding the Proliferating Effect of Estrogen on the Uterus

Summary. 1. The proliferation of smooth muscle and connective tissue cells in oestrogen-stimulated uteri occurs by atypical mitosis.

2. Uteri with a high proliferating rate have numerous dedifferentiated, granulated cells (corresponding to the neutrophilic tissue leucocytes seen by light microscopy). These cells are interpreted as being in retarded mitosis due to the colchicine-like effect of estrogen.

3. The "eosinophils" specific only for estrogen may be myelocytes or cells in arrested mitosis.

Zusammenfassung. 1. Für die Proliferation von uteriner Muskulatur und von Bindegewebe unter dem Einfluß der Ovarialhormone wird eine atypische Zellteilung angenommen.

2. Das vermehrte Vorkommen entdifferenzierter granulierter Zellen in Ringmuskulatur und Bindegewebe (die den lichtmikroskopisch sichtbaren neutrophilen „Spezialleukocyten“ entsprechen) von Uteri mit hoher Wachstumsrate wird als Zeichen einer oestrogenbedingten Mitosestörung bzw. Mitoseverzögerung gedeutet.

3. Die Frage, ob es sich bei den für Oestradiol spezifischen „eosinophilen Leukocyten“ um myeloische Zellen handelt, oder um arretierte Mitosen, kann vorläufig noch nicht entschieden werden.

Eine colchicinähnliche Wirkung von Oestrogen auf unspezifische Gewebe ist seit langem bekannt (v. MÖLLENDORFF, 1941) und wurde durch neuere lichtmikroskopische Untersuchungen bestätigt (LETTRÉ, 1954; SIEBS, 1960; AGRELL, 1955). Über Oestrogenwirkung am Endometrium liegen einander widersprechende Befunde vor. So berichtet TICE (1961) über Mitosestörungen, während EPIFANOWA (1966) eine Zunahme der Mitosen beobachtete. Nur wenige morphologische Arbeiten befassen sich mit der Oestrogenwirkung auf Myometrium und Submucosa, jedoch unter dem Gesichtspunkt, ob die am Kastratenuterus durch Oestrogen ausgelöste Gewichtszunahme auf Hypertrophie oder Hyperplasie beruht (CRANDALL, 1938; BARKS und OVERHOLSER, 1938). Andererseits wurde von GANSLER (1954), BJERSING und BORG LIN (1964), FISCHER und SCHÄFER (1966) das Auftreten von „Spezialleukocyten“ im „oestrogen-dominierten“ Myometrium beschrieben, die wegen ihrer großen Zahl bei der Gewichtszunahme berücksichtigt werden müssen. Aufgrund neuer, elektronenmikroskopischer Untersuchungen (NEMETSCHEK-GANSLER, 1966) hat sich die Frage ergeben, ob auch im Myometrium colchicinähnliche Effekte eine Rolle spielen und ob die „Spezialleukocyten“ Ausdruck einer Mitosestörung sind.

Material und Methode

a) Sechs geschlechtsreife weibliche Wistar-Ratten, die in verschiedenen Cyclusphasen getötet wurden. Die Bestimmung der Cyclusphase erfolgte aufgrund der Untersuchung von Vaginalabstrichen und Schnittpräparaten.

* Durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

- b) Vier geschlechtsreife Wistar-Ratten, die 4 Wochen nach der Kastration getötet wurden.
- c) Von 16 Ratten, die 4 Wochen nach Kastration eine einmalige Injektion von 1 mg Oestradiol (CIBA) erhielten, wurden jeweils 2 Tiere in folgenden Zeitabständen nach der Injektion getötet: 1, 3 und 14 Std, 2, 3, 5, 12 und 25 Tage.
- d) Vier geschlechtsreife Ratten, die eine einmalige Injektion von 1 mg Oestradiol erhielten und 6 Tage später getötet wurden.
- e) Zwei infantile weibliche Ratten (Alter 4 Wochen).
- f) Drei Uteri trächtiger Ratten, die 4, 6 und 12 Tage nach dem letzten Oestrus getötet wurden.

Die Tiere wurden in Narkose vom linken Ventrikel aus zunächst mit körperwarmen Hämaccel (50 cm³) und anschließend mit gepuffertem isotonischem Glutaraldehyd (NEMETSCHEK-GANSLER, 1964) perfundiert. Nach 15 min wurden die Uteri entnommen, zugeschnitten und in Phosphatpuffer gewaschen. Nachfixierung mit gepuffertem OsO₄, Einbettung in Epon. Die Semidünnschnitte wurden für die lichtmikroskopischen Untersuchungen mit Toluuidinblau gefärbt, die Dünnschnitte mit Uranyl- und Blei-Ionen nachkontrastiert. Für die Aufnahmen stand ein Siemens-Elmiskop I zur Verfügung. Sie wurden bei 80 kV Beschleunigungsspannung mit Feinstrahlkondensor angefertigt.

Befunde

Makroskopisch beobachtet man zunächst eine deutliche Zunahme der Wanddicke der Kastratenuteri. Während 1—3 Wochen nach einmaliger Follikel-Hormon-Injektion (FH) nehmen die Uterushörner an Größe zu, erscheinen jedoch dünnwandig und gedeckt. Dies hängt mit der sich im Lumen ansammelnden serösen Flüssigkeit zusammen, wie dies auch für die Prooestrus/Oestrusphase der normalen Ratte charakteristisch ist (LONG und EVANS, 1922). Vier Wochen nach FH-Applikation sind die Uterushörner im allgemeinen noch vergrößert, aber wieder kompakt. Im Unterschied zum Ablauf am Kastratenuterus, bei welchem das Wachstum der Hörner zumindest teilweise auf Flüssigkeitsansammlungen beruht, kommt es an normalen geschlechtsreifen Ratten nach zusätzlicher FH-Applikation zu einer deutlichen Gewebszunahme.

Lichtmikroskopisch ist in Ergänzung zu früheren Befunden auf die Polymorphie der Zellkerne von Muskulatur, submukösem Bindegewebe und „Spezialeukocyten“ mit und ohne eosinophilen Granula hinzuweisen, die sowohl Form, Größe als auch den Chromatingehalt betrifft. Die bizarr verformten Kerne von Muskulatur und Bindegewebe können oft nicht sicher gegen ring- und segmentkernige „Spezialeukocyten“ abgegrenzt werden. Im Infantilen- oder Kastratenuterus sind die Kerne gleichförmig, „Spezialeukocyten“ fehlen. Zwischen den mit Oestrogen behandelten Uteri nicht kastrierter und kastrierter Ratten lassen sich lichtmikroskopisch nur quantitative Unterschiede feststellen. Echte Mitosen bzw. Meta- und Anaphasen sind nur sehr selten zu erkennen, wobei die Metaphasen verklumpt sind und die Anaphasen meist multipolar vorliegen.

Elektronenmikroskopisch ist in den verschiedenen Cyclusphasen normaler Tiere das morphologische Bild der Uteruswand äußerst polymorph. Dagegen kann man an den Uteri kastrierter Tiere den Beginn der Oestrogenwirkung topographisch verfolgen: So beobachtet man zunächst Veränderungen am Capillarendothel und Schleimhautbindegewebe. Dann folgen die perivasculären und die submukösen Bereiche. Nach 2—3 Tagen sind die für Oestrogen charakteristischen cellulären Veränderungen in der gesamten Uteruswand voll ausgebildet. Die für Endothel-, Muskel- und Bindegewebzellen gemeinsamen Veränderungen betreffen:

a) Kernverformungen, die im Schnittbild als gelappte, Rund-, Sichel-, Ring- oder Segmentkerne erscheinen und mit einer beachtlichen Chromatinkondensation einhergehen. Ferner findet man häufig eine signifikante Streuung der Kerngrößen, ähnlich wie sie von ALTMANN (1966) als charakteristisch für proliferierendes Lebergewebe beschrieben wurde.

b) Zunahme der freien Ribosomen, des granulären und agranulären Reticulum, sowie Entstehung einzelner osmiophiler Granula unterschiedlicher Größe und Dichte. Hieraus resultiert eine weitgehende Entdifferenzierung des Cytoplasma, so daß innerhalb der Ringmuskulatur häufig nicht sicher zwischen Muskel- und Bindegewebszellen unterschieden werden kann.

c) Ausbildung des achromatischen Apparates, d. h. Verdopplung der Centriolen und Sichtbarwerden von Spindeltubuli, wobei die verdoppelten Centriolen und die radiär oder ungeordnet verlaufenden Spindeltubuli häufig zwischen zwei Kernanschnitten liegen.

d) Bizarre Faltungen der Oberflächenmembran in Form des sog. „bubbling“ und durch Invaginationen (Abb. 1 und 5).

Verschiedene Formen solcher entdifferenzierter Zellen aus der Ringmuskulatur sind in Abb. 1 und 2 wiedergegeben. In der Submucosa ist prinzipiell das gleiche Bild zu beobachten; auch die Endothelien zeigen die gleiche Feinstruktur, jedoch ist die Ausbildung osmiophiler Granula seltener. Während in Abb. 1 granuläres und agranuläres Reticulum deutlich zu erkennen sind, zeigen die Cytoplasmen in Abb. 2 vorwiegend freie Ribosomen. Hier kommt auch die Streuung der Kerngrößen sowie die Zweikernigkeit längsgeschnittener Zellen gut zur Darstellung. Die osmiophilen Granula können diffus über die Zelle verteilt oder auch in Nestern angeordnet sein, wie dies für typische Metaphasen charakteristisch ist (ROBBINS, 1964). Die bizarre Verformung der Kernoberflächen, die meist mit einem deutlich ausgeprägten agranulären Reticulum einschließlich Centriolen und Spindeltubuli einhergeht, ist in Abb. 3 wiedergegeben. Häufig findet man gröbere oder feinere Chromatinaggregate, die an eine beginnende Metaphase erinnern, ohne jedoch einen vollständigen Zerfall der Kerne in Chromosomenaggregate erkennen zu lassen. Genauso waren auch in progesteron-dominierten und in graviden Uteri typische Mitosen nicht nachweisbar. Lediglich in den Uteri infantiler Tiere kommen neben den bisher beschriebenen Zellformen auch „echte“ Mitosen vor. Typisch für die Oestrogenwirkung ist das Auftreten von „Zellbändern“, innerhalb deren Zellgrenzen nicht sicher auszumachen sind, während Kerne und Cytoplasma unterschiedlich differenziert sein können (Abb. 4). Ob diese auf eine asymmetrische Zellteilung hinweisen, kann noch nicht sicher entschieden werden. Nicht selten findet man in diesen entdifferenzierten Zellen auch Cytoplasmateilungen, die allerdings ohne Einschnürung erfolgen. Über gelegentlich vorkommende scheinbare Amitosen soll an anderer Stelle berichtet werden.

In den Uteri infantiler und kastrierter Tiere überwiegen differenzierte Muskel- und Bindegewebszellen mit typischen Interphasenkernen. Auch am Ende der Gravidität ist das Zellbild der interplacentaren Uteruswand ziemlich gleichförmig, wobei die Muskelzellen deutlich vergrößert sind (NEMETSCHEK-GANSLER, 1967),

Unter dem Einfluß der Ovarialhormone (am Kastraten-Uterus vornehmlich in den ersten 3—24 Std, am normalen Uterus auch längere Zeit nach zusätzlichen Oestrogengaben) gibt es neben Bereichen mit normal differenzierten



Abb. 1. Ausschnitt aus einer entdifferenzierten Muskelzelle mit stark gefalteter Zelloberfläche („bubbling“), wie sie für die frühen Teilungsstadien charakteristisch ist. Zwischen zwei Kernanschritten (K), von denen der linke eine polymorphe Oberfläche hat, Zentriol (Z), Spindeltubuli und Golgikomplex. Kastraten-Uterus 2 Tage nach Oestrogenapplikation

„Arbeitszellen“ in Muskulatur und Bindegewebe ausgedehnte Areale mit den beschriebenen entdifferenzierten Zellformen. Die Korrelation von Entdifferen-

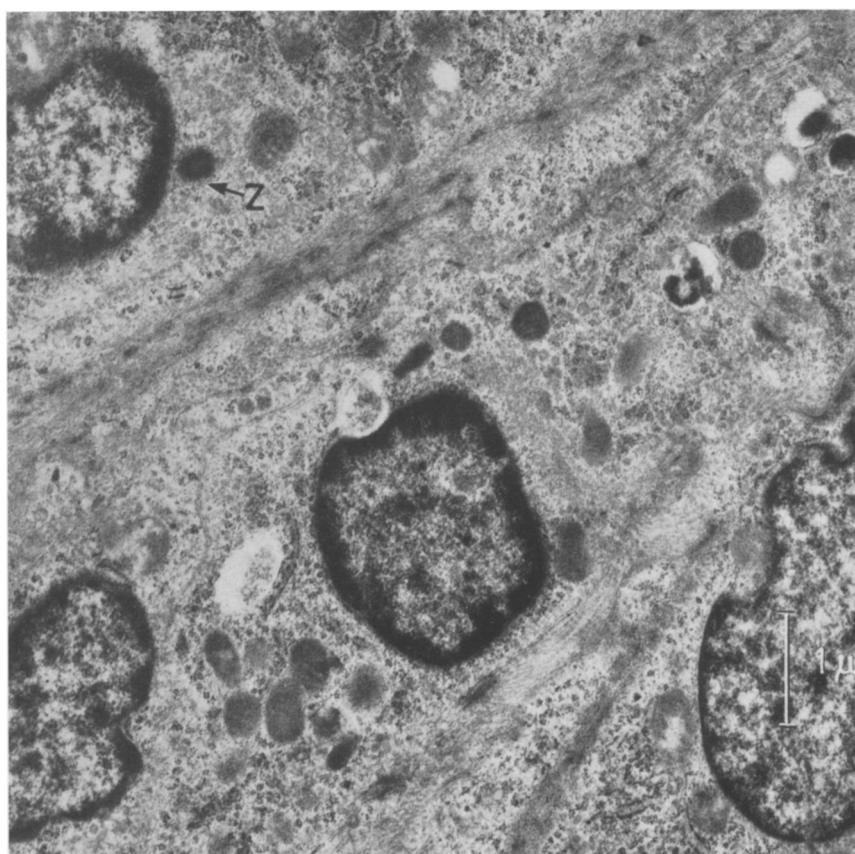


Abb. 2. Entdifferenzierte Muskelzellen, mit vorwiegend freien Ribosomen. Oben links perinuklear ein Zentriol (Z). Die mittlere Zelle zeigt zwei kleine Rundkerne (beginnende Telophase ?), rechts ein angeschnittener „Großkern“. Normale Ratte, die zusätzlich Oestradiol erhielt

zierung des Cytoplasma, Ausbildung des achromatischen Apparates und Kernpolymorphie einschließlich Chromatinkondensation lässt vermuten, daß es sich hier um *Proliferationszonen* handelt. Offenbar ist der Zellteilungsmodus in Muskulatur und Bindegewebe des hormonstimulierten Uterus schon normalerweise atypisch. Für diese Annahme spricht, daß wir „echte“ Mitosen bisher nur vereinzelt in Muskulatur und Bindegewebe *infantiler* Tiere fanden, während sie auch im graviden Uterus fehlen. Schließlich sei noch erwähnt, daß im Endometrium normal cyclischer und oestrogenbehandelter Ratten neben typischen Mitosen ebenfalls entdifferenzierte Zellen mit einer vergleichbaren Feinstruktur vorkommen.

Auch die Endothelien der uterinen Capillaren zeigen die beschriebenen Proliferationsmerkmale, wobei man nicht selten ins Gefäßlumen sich ablösende Zellen beobachtet, die nicht mit Myelocyten verwechselt werden können. Aufgrund der bisherigen Befunde ist eine Passage von Myelocyten ins Gewebe wenig wahrscheinlich.

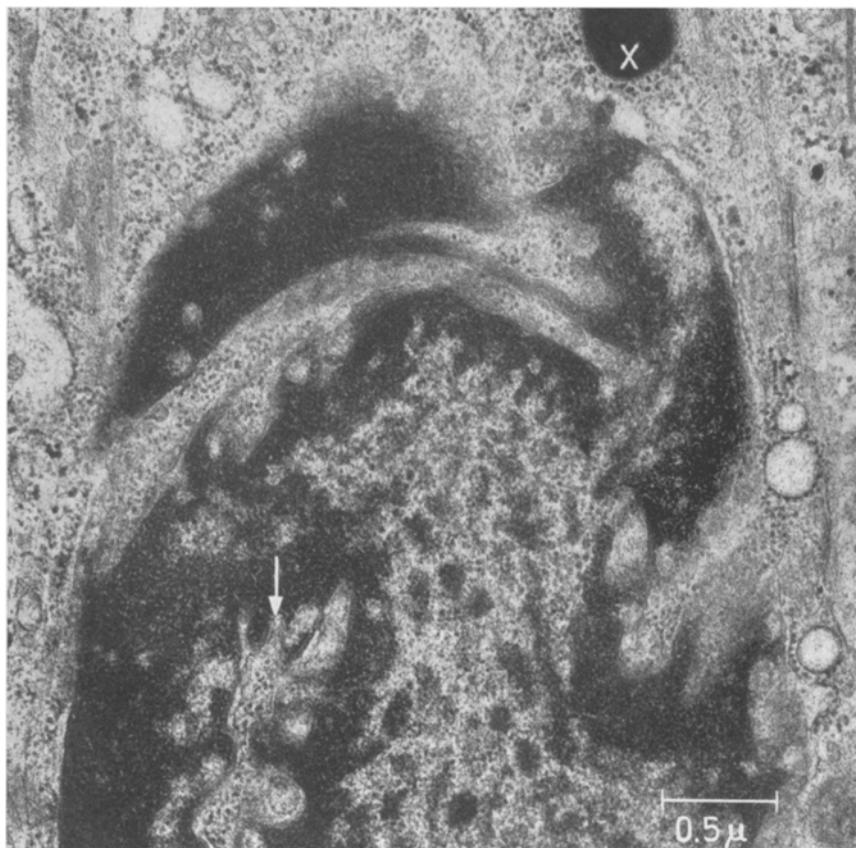


Abb. 3. Zellkern mit unregelmäßiger Kernoberfläche, der jedoch lichtoptisch noch als spindelförmiger Kern in Erscheinung tritt. Die Cytoplasmainsel (Pfeil) lässt eine beginnende Ringkernbildung vermuten. Die zahlreichen kleineren Chromatinaggregate sind vergleichbar mit späten Prophasestadien normaler Mitosen. Bei \times Anschnitt eines solitären osmiophilen Granulum. Normale Prooestrus-Ratte

Von besonderem Interesse für die Fragestellung oestrogen-bedingter Mitosestörungen ist die Beobachtung einer weiteren Zellform: Sie unterscheidet sich von den bisher beschriebenen nur durch das gehäufte Vorkommen osmiophiler Granula, wobei es zwischen den beiden Zellformen fließende Übergänge gibt. Offenbar besteht ein umgekehrtes Verhältnis zwischen Spindeltubuli und osmiophilen Granula: Zellen mit vielen Spindeltubuli haben wenig Granula, Zellen mit viel Granula haben rudimentär ungeordnete Spindeltubuli. Die Spindeltubuli lassen eine deutliche Beziehung zu den Bläschen des Golgiefeldes erkennen. Da auch die Granula unterschiedlicher Größe und Dichte, die meist von einer Membran begrenzt sind, aus Golgikanälchen entstehen dürften, scheint es sich bei diesen um homologe Strukturen der Spindeltubuli zu handeln. Ferner verdient eine Centriolenart Interesse, die durch einen mehr oder weniger distinkten Cilienschaft charakterisiert ist und intraplasmatisch verlaufende Tubuli aufweist

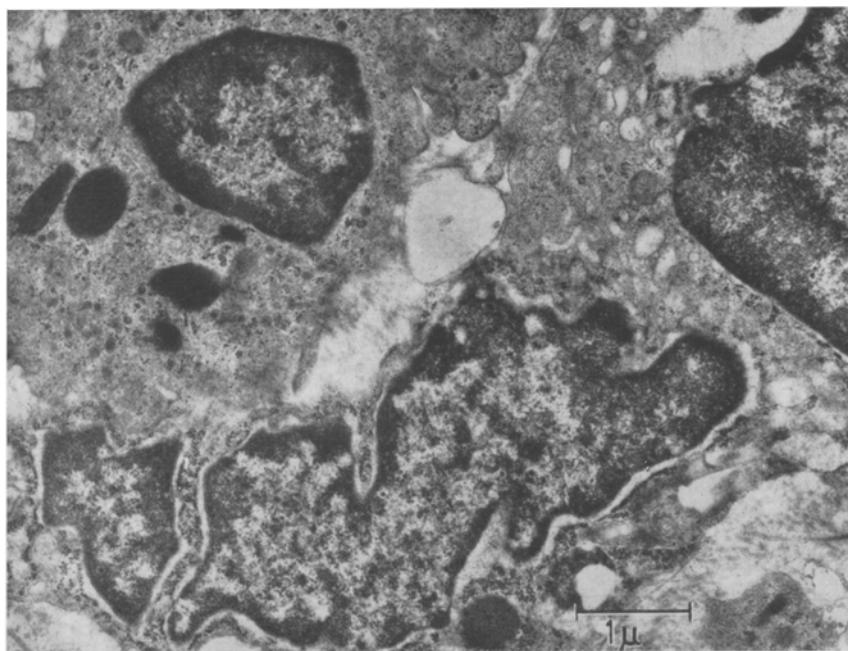


Abb. 4. „Zellverband“ bzw. Aggregat dreier Zellen aus der Submucosa (normale Ratte nach zusätzlicher FH-Applikation), von denen nur die beiden oberen gut gegeneinander abzugrenzen sind. Links oben „Eosinophiler“ mit rundem Kern und wenigen osmiophilen Granula

(Abb. 6b). Da sich diese Form sowohl von Centriolen als auch von Cilien unterscheidet, kann sie ebenfalls als Zeichen eines gestörten achromatischen Apparates gedeutet werden (in den Uteri gravider Ratten zeigen Muskel- und Bindegewebszellen neben einem voll ausgebildeten achromatischen Apparat gelegentlich auch normale Cilien, was für eine konkurrierende Ausbildung der erwähnten Strukturen spricht). Die granulierte Zellen erscheinen im Schnitt häufiger multinuklear als die nicht granulierte, was auf eine Endomitose hinweisen könnte. Daß es sich bei diesen polymorpdkernigen entdifferenzierten Zellen mit zahlreichen osmiophilen Granula nicht um neutrophile Myelocyten handeln kann, ergibt sich vor allem aus der Ähnlichkeit mit den beschriebenen Proliferationsformen bzw. dem gut differenzierten Golgikomplex und den Doppelcentriolen bzw. Centriolar-knospen (Abb. 6a). Eine deutliche Zunahme dieser granulierten Zellen ist zu beobachten in Kastraten-Uteri nach kurzzeitiger Oestrogenwirkung (3—24 Std) sowie in Uteri normaler Tiere auch nach längerer zusätzlicher Oestrogenapplikation.

Wir kommen nunmehr zu den sog. eosinophilen Leukocyten, die elektronenmikroskopisch durch das Auftreten großer osmiophiler Granula mit kristalloider Innenstruktur charakterisiert sind. Die „typischen“ Formen dieser polymorpdkernigen Zellen zeigen perinuklear eosinophile Granula, die von einer Membran begrenzt sind, sowie zahlreiche peripher gelegene Bläschen einheitlicher Größe. Andere Zellorganellen fehlen fast vollständig. Diese Zellform ist von

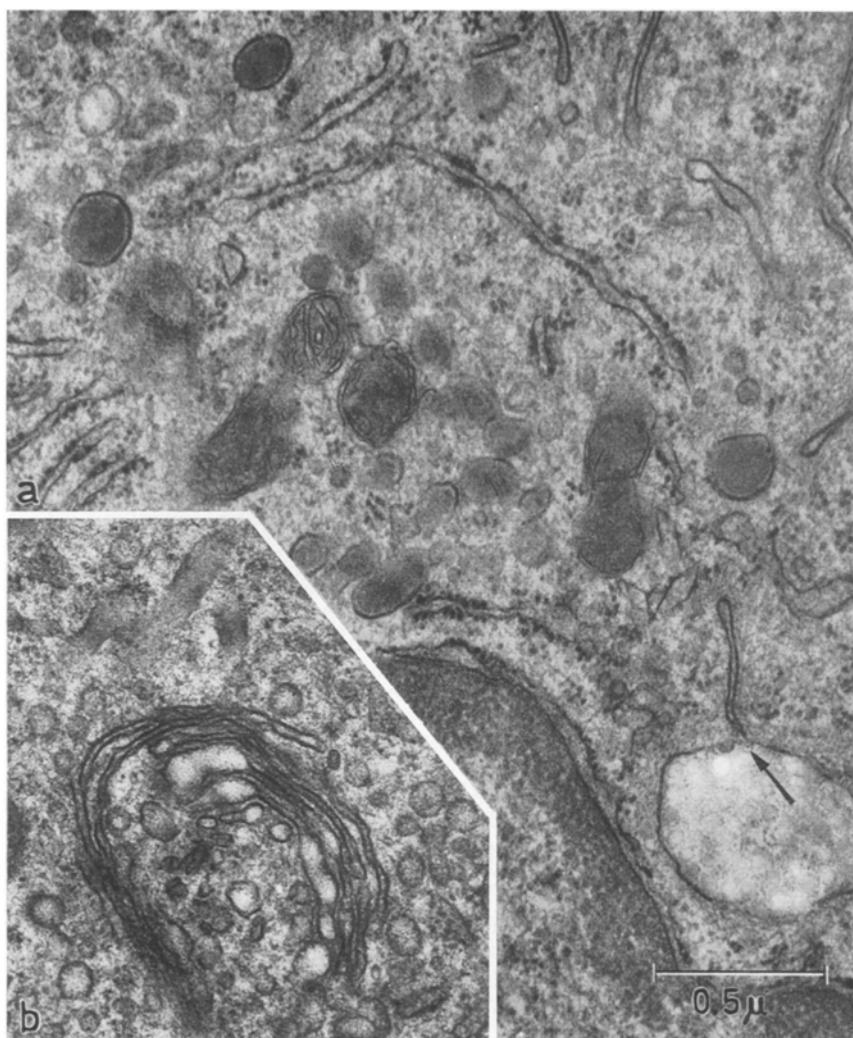


Abb. 5. Ausschnitte aus einer granulierten Zelle mit ausgesprochenem „bubbling“ der Zelloberfläche; im Bild nur an der mit Pfeil markierten Stelle erhalten. a Golgibläschen und -membranen z.T. stark dilatiert und b membranbegrenzte Granula unterschiedlicher Größe und Dichte. Uterus einer normalen Prooestrus-Ratte

hämatogenen Eosinophilen nicht zu unterscheiden. Im Oestrus und ab 2.—3. Tag nach FH-Applikation sind sie zahlreich zu beobachten. Daneben gibt es aber noch eine Reihe atypischer Formen, die in den Uteri sowohl normal cyclischer als auch oestrogenbehandelter Tiere vorkommen, hier vor allem bei beginnender und abklingender FH-Wirkung. So findet man in Abb. 7 eine Ansammlung atypischer „eosinophiler“ Zellen, deren spindelförmige oder segmentierte Kerne teilweise zu zerfließen scheinen, und deren Zellgrenzen nicht immer sicher zu ermitteln sind. Die großen osmiophilen Granula zeigen nur teilweise

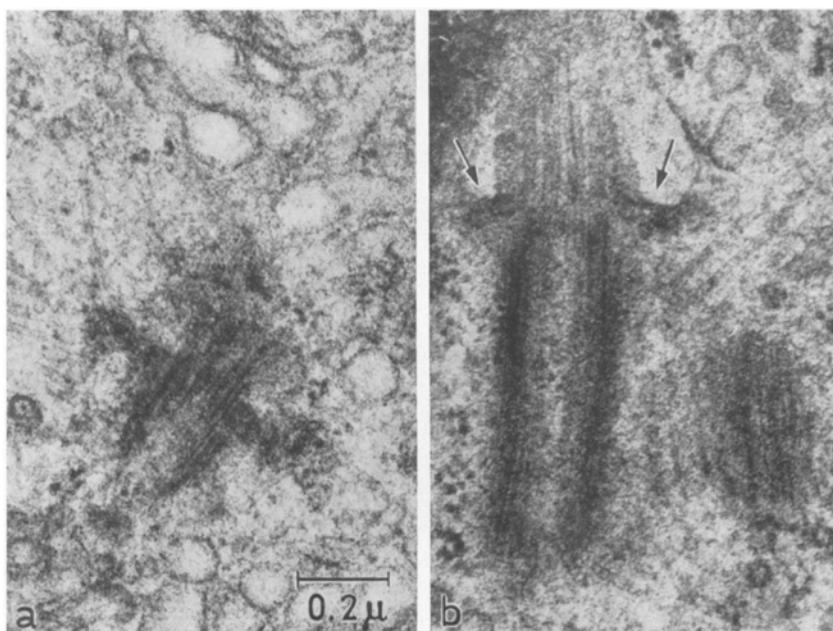


Abb. 6. a Centriol mit seitlichen Knospen ebenfalls aus einer zweikernigen entdifferenzierten Zelle. Perizentriolär osmiophiler Hof sowie ungeordnete Spindeltubuli und Golgibläschen.
 6b Atypische Centriolen und Cilien. Die Cilien-Tubuli verlaufen intracellulär.
 Die Cilienschäfte sind parallel (Pfeile) oder senkrecht hierzu angeordnet

eine kristalloide Innenstruktur. Bei höherer Vergrößerung sieht man neben den typischen kristalloiden Granula zahlreiche osmiophile Aggregate ohne scharfe Begrenzung mit und ohne Verdichtungszonen, die nicht selten unmittelbar dem Kern oder Chromatinaggregaten anliegen. Auch gibt es „nackte“ kristalloide Gebilde, sowie frei im Extracellulärraum liegende „eosinophile“ Granula. Eine Beziehung zwischen diesen und den Golgiformationen war nicht zu beobachten, obwohl gelegentlich auch „Eosinophile“ mit Centriolen und rudimentären Spindeltubuli zu finden sind. Ferner ist das Vorkommen von Eosinophilen zu erwähnen, die neben nur wenigen kristalloiden Granula reichlich Ribosomen und granuläres Reticulum enthalten. Auffallend ist, daß solche atypischen Formen nicht selten mit langgestreckten spindelförmigen Kernen bei abklingender Oestradiolwirkung häufiger vorzukommen scheinen. Dies läßt vermuten, daß mit Abklingen bzw. Aufhören der Oestrogenwirkung eine Umwandlung dieser Zellen möglich ist. Ob sich diese verschiedenen Formen „eosinophiler“ Zellen auch enzymchemisch unterscheiden, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Erwähnt sei noch, daß solitäre Granula ohne kristalloide Innenstruktur nicht selten in entdifferenzierten Muskelzellen vorkommen und einen deutlichen Unterschied zu den kleineren membrangebundenen Granula zeigen. Die detaillierte Analyse der Feinstruktur des achromatischen Apparates bzw. der atypischen Teilungsform entdifferenzierter Zellen soll gemeinsam mit der Feinstruktur typischer Mitosen von Muskel- und Bindegewebszellen besprochen werden.

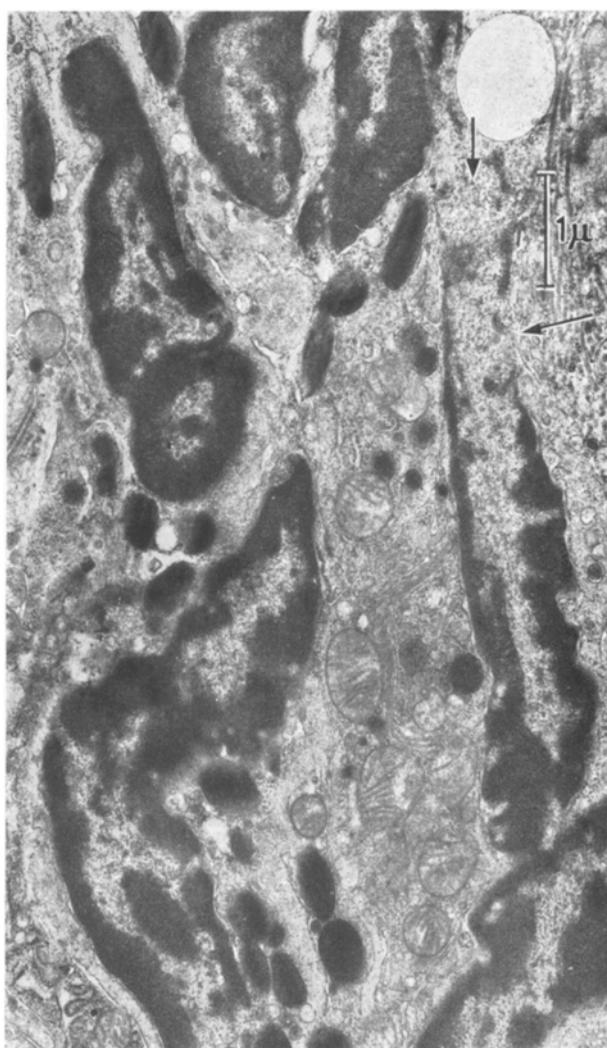


Abb. 7. Konglomerat atypischer „Eosinophiler“. Kastraten-Uterus 3 Tage nach FH-Applikation. Zellgrenzen sind auch bei höherer Auflösung nicht zu erkennen. Auffallende Kernformen und Chromatinkondensationen; der spindelförmige Kern rechts ist an den markierten Stellen (↑) nicht gegen das Cytoplasma abzugrenzen. Neben osmiophilen Granula zahlreiche Mitochondrien, die in normalen Eosinophilen fast vollständig fehlen

Diskussion

Zur Beantwortung der Fragen nach den Ursachen des oestrogen-bedingten Wachstums und nach einem möglichen Zusammenhang zwischen der bekannten colchicinähnlichen Wirkung der Oestrogene und dem Auftreten der sog. „Spezialleukocyten“ ergeben sich anhand der mitgeteilten Befunde folgende Möglichkeiten:

1. Die oestrogenbedingte Vergrößerung der Kastraten-Uteri scheint aufgrund der elektronenmikroskopischen Befunde auf einer *gesteigerten Proliferation* zu

beruhen. Das häufige Vorkommen verdoppelter Centriolen und Spindeltubuli zwischen zwei Kernanschnitten läßt einen ähnlichen Teilungsmodus vermuten, wie er von KAWAMURA (1960) phasenkontrastmikroskopisch an Neuroblasten des Grashupfers beobachtet wurde. Die vorliegenden Befunde deuten darauf hin, daß die atypische Teilungsform vor allem Meta- und Anaphase betrifft und daß die Cytoplasmateilung nur selten mit einer Einschnürung verbunden ist. Daß solche Teilungsformen noch dem Bereich normaler Proliferation zuzurechnen sind, ergibt sich aus ihrem häufigen Vorkommen in Uteri mit eindeutiger Gewebsvermehrung. Auch in der Literatur finden sich Hinweise auf normalerweise vorkommende atypische Mitosen. So ist nach einer Untersuchung von SCHMID (1966) an einer großen Zahl tierischer und pflanzlicher Gewebe wenigstens die Hälfte aller Mitosen in bezug auf die Metaphasen atypisch. Hieraus folgen multipolare Anaphasen sowie abnorme Interphasenkerne, vor allem Micronuclei, wobei die Frage offen bleibt, ob die aus solchen typischen Mitosen entstandenen Zellen teilungsfähig sind. Es fällt weiterhin auf, daß eine gewisse Diskrepanz besteht zwischen der autoradiographisch nachgewiesenen DNS-Synthese und den lichtmikroskopisch erfaßbaren Mitosen. So haben SCHULTZE u. Mitarb. (1961) an Geweben des Rattenauges die DNS Neubildung nach Verabreichung von ^3H -Thymidin bestimmt, ohne gleichzeitig die erwarteten Mitosen beobachtet zu haben. Schließlich beschreiben LADINSKY u. Mitarb. (1965) ebenfalls nach Verabreichung markierten Thymidins eine starke Aktivität in allen Zellen der Basalschicht des Vaginalepithels oestrogenbehandelter Ratten, während wir bei der gleichen Versuchsanordnung, jedoch ohne Markierung, nur vereinzelte Mitosen beobachteten. Allerdings sollen nach MAZZIA, 1961 DNS-Synthese und Zellteilung nicht immer korreliert sein, bzw. nicht alle Teilungshemmer oder -stimulatoren über DNS-Synthese funktionieren. Ferner läßt sich aus den bisher vorliegenden *elektronenmikroskopischen* Untersuchungen über verschiedene Mitosestadien entnehmen, daß diese nur teilweise mit den typischen lichtmikroskopischen Mitosen übereinstimmen (u. a. HSU u. Mitarb., 1965; STEVENS, 1965 und ROBINOW, 1966).

2. Eine *colchicinähnliche Wirkung* wurde bisher noch nicht an Myometrium und Submucosa beschrieben. Berücksichtigt man die in der älteren Literatur als Beweis für eine Hyperplasie abgebildeten Mitosen und vergleicht diese mit den für Colchicinwirkung charakteristischen Formen der Mitosestörung oder mit den von uns beschriebenen „Spezialeukocyten“ des oestrogenstimulierten Uterus, so fällt eine Übereinstimmung zwischen diesen drei Zellformen auf. Aufgrund der elektronenmikroskopischen Befunde gewinnt man den Eindruck, daß es sich bei diesen „Spezialeukocyten“ um Zellen mit oestrogenbedingten Mitosestörungen handelt. Diese Annahme wird gestützt durch das Vorkommen fließender Übergänge zwischen granulierten Zellen und den Proliferationsformen sowie durch die Beobachtung (ROBBINS, 1964), daß die in peripheren Nestern angeordneten osmiophilen Granula ein charakteristisches Merkmal normaler Metaphasen darstellen.

Weiterhin ist bekannt, daß sowohl Oestrogene (SIEBS, 1960) als auch Colchicin (STUBBLEFIELD, 1966) primär am Spindelapparat angreifen. Im Unterschied zu STUBBLEFIELD, der unter Colcemid eine reversible Zunahme der Cilien auf Kosten der Spindeltubuli als Regel beschreibt, scheint in unserem Material die

Abnahme der Spindeltubuli vor allem mit einer Vermehrung der osmiophilen Granula verbunden zu sein.

Auch TERAO und GROPP (1965) beschrieben unter Colcemid und β -Mercapto-äthanol gestörte Metaphasen, wobei die rosettenartige Anordnung der Chromosomen zur Entstehung ringkerniger mesenchymaler Zellen führte. Die Autoren vermuten, daß der gestörte Spindelapparat eine prämetaphatische Umordnung bis zum Äquatorialring noch zuläßt, dann aber eine Trennung der Chromatiden bzw. eine Wanderung der Chromosomen zu den Polen verhindert. Demgegenüber beobachteten VAN T'HOFF (1965) sowie FETNER und PORTER (1965) unter Colchicinwirkung multipolare Mitosen. Unsere Befunde sprechen dafür, daß sowohl multipolare als auch ringkernige Zellen nebeneinander vorkommen können. Sollten sich unsere bisherigen Befunde auch weiterhin bestätigen, so würde dies bedeuten, daß es atypische Proliferationsformen gibt, die lichtmikroskopisch zumindest am Schnitt nicht mehr zu erfassen sind, und daß von hier zu dem oestrogenbedingten neutrophilen „Spezialleukocyten“ fließende Übergänge bestehen. Paralleluntersuchungen an anderen Geweben lassen vermuten, daß solche atypischen und verzögerten Zellteilungen auch unter anderen physiologischen und experimentellen Bedingungen vorkommen.

3. Zur Frage der Genese der sog. „eosinophilen“ Spezialleukocyten, die im Oestrus und nach längerer Oestrogenwirkung in großer Zahl sowohl in der Ringmuskulatur als auch in der Submucosa auftreten, kann noch nicht Stellung genommen werden. Vorläufig scheint die auffallende Polymorphie dieser Zellen sowie die gelegentliche Beobachtung von Doppelcentriolen und rudimentären Spindeltubuli schwer mit der Annahme zu vereinbaren, daß es sich um reife myelogene Zellen handelt. Zwar konnten Übergangsstadien zwischen den entdifferenzierten Zellen mit und ohne osmophile Granula einerseits und den „Eosinophilen“ andererseits bisher *nicht* beobachtet werden, jedoch lassen Feinstruktur und Topographie der spezifischen Granula mit und ohne kristalloide Einschlüsse die Möglichkeit offen, diese mit Störungen des *chromatischen* Apparates in Verbindung zu bringen. Berücksichtigt man weiter, daß die durch Oestrogen erzielte geringere Wachstumsrate am Kastraten-Uterus verbunden ist mit einer deutlichen Vermehrung der „Eosinophilen“, während der weitaus größere Gewebszuwachs an normalen Uteri nach zusätzlicher Oestradiolapplikation mit einer Vermehrung der einfach granulierten Zellen einhergeht, so liegt es nahe, begrenztes Wachstum mit der Ausbildung der „Eosinophilen“ in Verbindung zu bringen, d.h. diese als Zeichen einer *arretierten* und *nicht nur verzögerten* Mitose zu deuten. Hierfür sprechen auch Befunde an Uteri unter abklingender Oestrogenwirkung.

Frau Dr. REANTE LETTERÉ danke ich für wertvolle Diskussionen, Fräulein FINZE, Frau GRUND und Fräulein PONTENAGEL für technische Hilfe und Mitarbeit.

Literatur

- AGRELL, I. P. S.: L'action de l'oestradiol sur les premières phases du développement embryonnaire de l'oursin *psaumechinus miliaris*. C. R. Soc. Biol. (Paris) **149**, 1322 (1955).
 ALTMANN, W.: Regeneration und Zellersatz. Verh. dtsch. Ges. Path. **50**, 15—53, Tagg 1966.
 BARKS, O. L., and M. D. OVERHOLSER: Hyperplasia and hypertrophy of the uterine musculature in ovariectomized rats following estrone injections. Anat. Rec. **70**, 401—409 (1938).
 BJERSING, L., and N. E. BORGJIN: Effect of hormones on incidence of uterine eosinophilia in rats. Acta path. microbiol scand. **60**, 27—35 (1964).

- CRANDALL, W. D.: A quantitative study of the influence of the ovarian hormones on hyperplasia by mitosis in the rabbit uterus in early pregnancy. *Anat. Rec.* **72**, 195—210 (1938).
- EPIFANOVA, O. I.: Mitotic cycles in estrogen-treated mice: A radioautographic study. *Exp. Cell Res.* **42**, 562—577 (1966).
- FETNER, R. H., and E. D. PORTNER: Multipolar mitosis in the KB (eagle) human cell line and its increases frequency as a function of 250 kV X-Radiation. *Exp. Cell Res.* **37**, 429—439 (1965).
- FISCHER, R., u. H. E. SCHAEFER: Vergleichende enzymchemische Untersuchungen an den Gewebeeosinophilen im Uterus von Ratte und Maus. *Virchows Arch. path. Anat.* **340**, 231—242 (1966).
- GANSLER, H.: Über ringkernige Gewebsleukozyten der Ratte und ihren Zusammenhang mit weiblichen Sexualhormonen. *Virchows Arch. path. Anat.* **325**, 90—97 (1954).
- VAN T'HOFF, J.: Discrepancies in mitotic cycle time when measured with tritiated thymidine and colchicine. *Exp. Cell Res.* **37**, 292—299 (1965).
- HSU, T. C., F. E. ARRIGHI, R. R. KLEVEZ, and B. R. BRINKLEY: The nucleoli in mitotic divisions of mammalian cells in vitro. *J. Cell Biol.* **26**, 539—553 (1965).
- KAWAMURA, K.: Studies on cytokinesis in neuroblasts of the grasshopper, *chortophaga viridifasciata* (de Geer). *Exp. Cell Res.* **21**, 1—18 (1960).
- LADINSKY, J. L., and B. M. PECKHAM: The kinetics of the generative compartment of the estrogen dependent Vaginal epithelium. *Exp. Cell Res.* **40**, 447—455 (1965).
- LETTRE, H.: Einige Beobachtungen über die experimentelle Erzeugung pluripolarer Mitosen. *Tg. f. Krebsforsch.* **60**, 1—8 (1954).
- LONG, J. A., and H. M. EVANS: The oestrus cycle in the albino rat. *Memories of the University of California* 1922.
- MAZIA, D.: Mitosis and the physiology of cell division. In: *The cell*, vol. III. New York: Academic Press 1961 (DNS-Synth. muß nicht mit Teilung einhergehen).
- MÖLLENDORFF, W. v.: Mitosenbeschädigung durch Geschlechtshormone und das Tumorproblem. *Schweiz. med. Wschr.* **71**, 329—331 (1941).
- NEMETSCHEK-GANSLER, H., u. M. BECKER: Die Bedeutung der Perfusionsfixierung für die Morphologie des Zentralnervensystems. *Acta anat. (Basel)* **57**, 152—162 (1964).
- Der Einfluß von Oestradiol auf die Zellteilung. Ein Beitrag zum Vorkommen polymorphekerniger Zellen in Muskulatur und Bindegewebe des Ratten-Uterus. *Naturwissenschaften* **54**, 98—99 (1967).
- Ultrastructure of the myometrium. In: *Cellular biology of the uterus*, ed. R. M. WYNN. New York: Appleton-Century Crofts, Division of Meredith Publishing Company 1967.
- ROBBINS, E., and N. K. GONATAS: The ultrastructure of a mammalian cell during the mitotic cycle. *J. Cell Biol.* **21**, 429—463 (1964).
- ROBINOW, C. F., and J. MARAK: A fiber apparatus in the nucleus of the yeast cell. *Cell Biol.* **29**, 129—151 (1966).
- SCHMID, W.: Multipolar spindles after endoreduplication. *Exp. Cell Res.* **42**, 201—204 (1966).
- SCHULTZE, B., G. APPONI u. A. NOVER: Autoradiographische Untersuchungen mit ³H-Thymidin über die DNS-Neubildung in den Geweben des Rattenauges. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthalm.* **163**, 130—138 (1961).
- SIEBS, W.: Mitoseablaufstörungen. I. Polchromosomen und Dreigruppen-Metaphasen. *Z. Zellforsch.* **51**, 497—534 (1960).
- STEVENS, B.: The fine structure of the nucleolus during mitosis in the grasshopper neuroblast cell. *J. Cell Biol.* **24**, 349—368 (1965).
- STUBBLEFIELD, E., and B. R. BRINKLEY: Cilia formation in Chinese hamster fibroblasts in vitro as a response to colcemid treatment. *J. Cell Biol.* **30**, 645—652 (1966).
- TERAO, K., u. A. GROPP: Erzeugung von ringkernigen mesenchymalen Zellen bei der Maus. *Exp. Cell Res.* **40**, 686—689 (1965).
- TICE, L. W.: Some effects of estrogen on uterine epithelial mitosis in the mouse. *Anat. Rec.* **139**, 515—524 (1961).