

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an menschlichen Mammacarcinomen

W. BUSCH und H.-J. MERKER

Pathologisches Institut des Städtischen Krankenhauses Moabit (Leiter: Prof. Dr. K. KLOOS)
und Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie der Freien Universität Berlin
(Leiter: Prof. Dr. W. SCHWARZ)

Eingegangen am 2. Februar 1968

Electron-Microscopic Studies of Human Breast Carcinomas

Summary. Breast cancers of 30 patients were examined by electron microscopy. Most of the tumours were solid, others showed a scirrhous or ductular structure, but all cancers possessed the same type of cells: i.e., cells with few or many cytoplasmic organelles, cells with many vacuoles, and still other cells with special structures. We found rare neoplastic cells with cytoplasmic filaments bundled together, suggesting these cells were derived from myoepithelial cells of the mammary gland. "Dark cells" developed from organelle rich cells which had reacted supravivally to the fixation method. Hydropic swelling of the mitochondria and the endoplasmic reticulum produced so-called vacuolized cells. There is no qualitative sign of malignancy. We think the reduction of cell organelles is evidence of staging in cellular differentiation.

Zusammenfassung. 1. 30 Mammacarcinome wurden elektronenmikroskopisch untersucht. Es wurden meist solide, daneben scirrhöse und duktuläre Zellverbände beobachtet.

2. In allen Tumoren kommen vor: organellenarme und organellenreiche Zellen, vacuolisierte Zellen und Zellen mit strukturellen Besonderheiten.

3. Dicht gebündelte Filamente im Cytoplasma einiger Tumorzellen lassen selten einen zusätzlichen differenten Zelltyp unterscheiden und eine Entartung der Myoepithelien vermuten.

4. Sog. „dunkle Zellen“ entstehen als supravitale Reaktion gegen das Fixierungsmittel aus organellenreichen Zellen.

5. Vacuolisierte Zellen leiten sich durch hydropische Schwellung der Mitochondrien und der Zellhohlraumssysteme vorwiegend von organellenreichen Zellen ab.

6. Ein qualitatives Merkmal der Malignität besteht nicht; jedoch geben Zellbesonderheiten in ihrer Gesamtheit einen Hinweis auf die maligne Entartung der Zelle, allerdings nur im Sinne eines quantitativen Befundes.

7. Das Ausmaß der Zellorganellenreduzierung scheint mit der Entdifferenzierung der Krebszelle einherzugehen.

Auf dem Gebiet der Erforschung des Mammacarcinoms gilt in Anlehnung an die Vorschläge der International Union Against Cancer das Einteilungsschema von HULTBORN und TÖRNBERG (1960), das sich für die klinischen Ansprüche im Sinne der Erleichterung einer Verständigung bewährt hat (BUSCH, u. KLOOS, 1967). Die Entwicklung der Elektronenmikroskopie ließ noch bessere Möglichkeiten zur Erfassung morphologischer Kennzeichen erwarten. Allerdings sind diese Möglichkeiten der höheren Auflösung beim Mammacarcinom bisher noch nicht voll ausgenutzt worden, obwohl die Ultrastruktur der normalen Mamma des Menschen und der Laboratoriumstiere durch die Untersuchungen von WAUGH und VAN DER HOEVEN (1962), BARGMANN und KNOOP (1958) sowie WELLINGS, DEOME und

PITELKA (1960), BARTON (1964), BÄSSLER und FORSSMANN (1964) und HOLLMANN (1959) gut bekannt ist. Das Mammacarcinom der Frau wurde von BARTON (1964), BERGER (1964), DAVID (1967), HAGUENAU (1959), ONOE (1962) sowie WELLINGS und ROBERTS (1963) untersucht. Daneben liegen zahlreiche Untersuchungen über die Ultrastruktur des spontanen Mammacarcinoms bei Mäusen und Ratten vor (MOHR, 1963; SCHULZ, 1957 u.a.).

Wir untersuchten eine große Zahl von menschlichen Mammacarcinomen, einmal, um den noch notwendigen deskriptiven Beitrag zur elektronenmikroskopischen Tumormorphologie zu leisten und ferner, um eine Beziehung zu den erwähnten lichtmikroskopischen Kriterien herstellen zu können. Außerdem sollen diese Untersuchungen als Grundlage dienen für den späteren Versuch einer elektronenmikroskopischen Beurteilung der Strahlensensibilität des Mammacarcinoms.

Material und Methode

Untersuchung von 30 Mammacarcinomen. Probeexcisionsmaterial zur Schnellschnittdiagnostik. Histologische Klassifizierung der Carcinome und Bestimmung des Malignitätsgrades nach HULTBORN und TÖRNERG (1960): 13 lobuläre Carcinome, 6 Ductus-Carcinome, 2 medulläre Carcinome mit lymphoidem Stroma, 9 gemischte Ductus-Lobulus-Carcinome; 16 Carcinome mit Malignitätsgrad III, 6 mit Malignitätsgrad II, 8 mit Malignitätsgrad I.

Fixierung des Materials in 2%igem gepufferten Glutaraldehyd (Michaelispuffer, pH 7,2) und folgend in OsO_4 oder primär in OsO_4 -Lösung (Michaelispuffer pH 7,2) mit Saccharose-zusatz. Entwässerung in der Acetonreihe, Einbettung in Vestopal. Schnitte: Servall- und LKB-Mikrotome. Nachkontrastierung: Uranylacetat und Bleicitrat. Aufnahme: Siemens Elmiskop I (Strahlenspannung 8p kV, Blenden 200/50 μ).

Befunde

Es lassen sich unterscheiden: Organellenarme und organellenreiche Zellen, vacuolisierte Zellen, filamentreiche Zellen und schließlich Zellen mit cytologischen Besonderheiten

1. Organellenarme Zellen (Abb. 1, 2). Diese Zellen sind in der Regel nicht sehr polygonal. Ihr Karyoplasma ist von geringer Elektronendichte und zeigt nur wenige Chromatinverdichtungen. Auffallend ist das Vorkommen von kanalartigen cytoplasmatischen Einstülpungen in den Kern einerseits (Abb. 5d) und andererseits knospenartige Vorwölbungen des Kernes in das Cytoplasma (Abb. 5b). Im Cytoplasma finden sich einige kleine abgerundete matrixreiche Mitochondrien mit nur wenigen Cristae. Das endoplasmatische Reticulum ist nur gering ausgebildet, in Form kurzer Hohlräume. Der Golgiapparat ist klein und besteht nur aus wenigen kurzen Säcken und einer geringen Zahl Vesikeln. Freie Ribosomen finden sich in geringer Anzahl einzeln oder in Gruppen. Diese organellenarmen Zellen können zu größeren Verbänden zusammengelagert sein oder sich einzeln zwischen organellreichen Zellen einschieben.

2. Organellenreiche Zellen (Abb. 1, 2, 3). Dieser Zelltyp ist in der Regel polygonal. Der Kern zeigt ovale Form mit einer Kernmembran von welligem, unregelmäßigem Verlauf. Chromatinverdichtungen finden sich sowohl membranständig als auch im Zentrum des Karyoplasma. Der vorwiegend aus Granula aufgebaute Nucleolus ist stark vergrößert und zeigt eine netzförmige Struktur (Abb. 5c). Große Teile des Cytoplasma sind ausgefüllt mit vorwiegend parallel verlaufenden Hohlräumen des endocyttoplasmatischen Reticulum mit Ribosomenbesatz. Der Golgiapparat

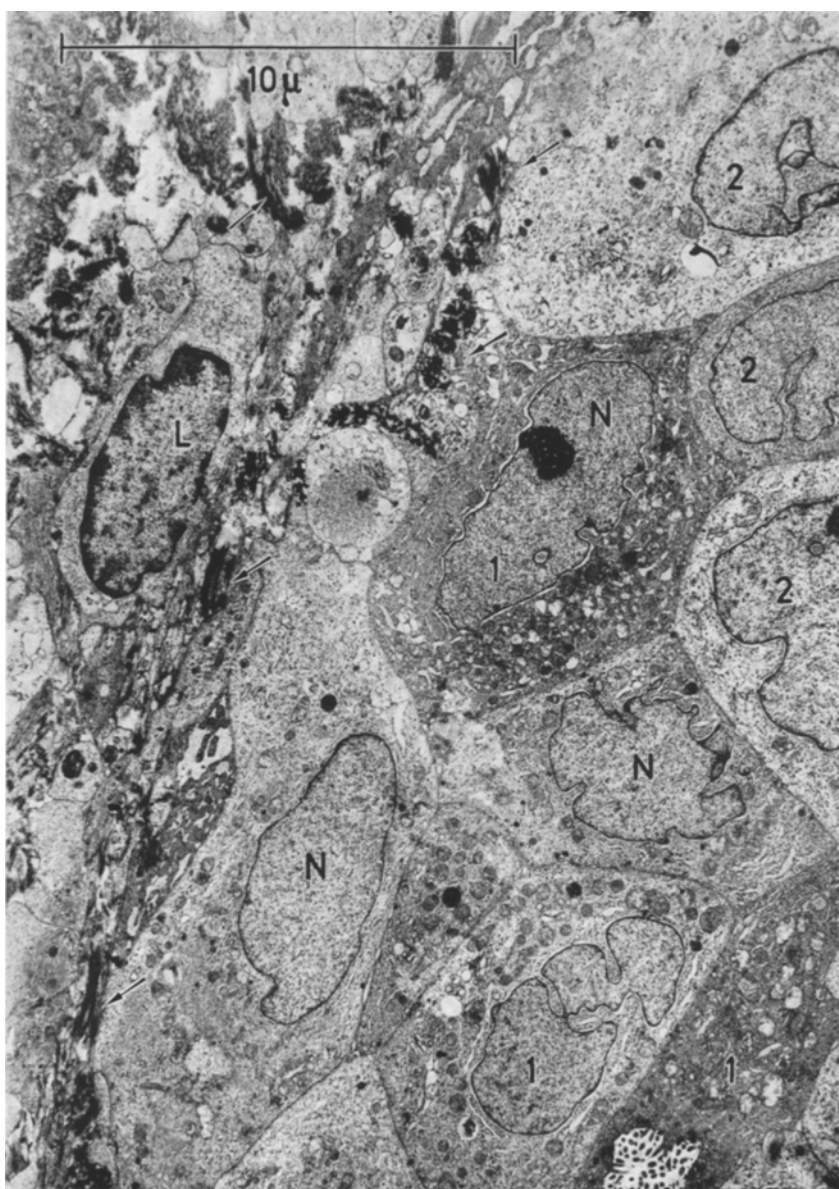


Abb. 1. Übersichtsbild aus dem Randgebiet eines soliden Mammacarcinoms mit organellenreichen (1) und organellenarmen (2) Zellen. *L* Lymphocyt an der Carcinom-Bindegewebsgrenze. Bei \swarrow Fibrineinlagerungen. *N* Nucleolus. Vergr. 1:6000

ist in diesen Zellen größer. Zwischen den Membransystemen liegen zahlreiche unterschiedlich große Mitochondrien, die eine wechselnde Zahl Cristae enthalten. Die Zellen dieses Typs liegen ebenfalls einzeln oder in größeren Verbänden.

3. *Vacuolisierte Zellen.* In manchen Mammacarcinomen kommen Bezirke vor, in denen die Mitochondrien und die übrigen Hohlräume Schwellungserscheinungen

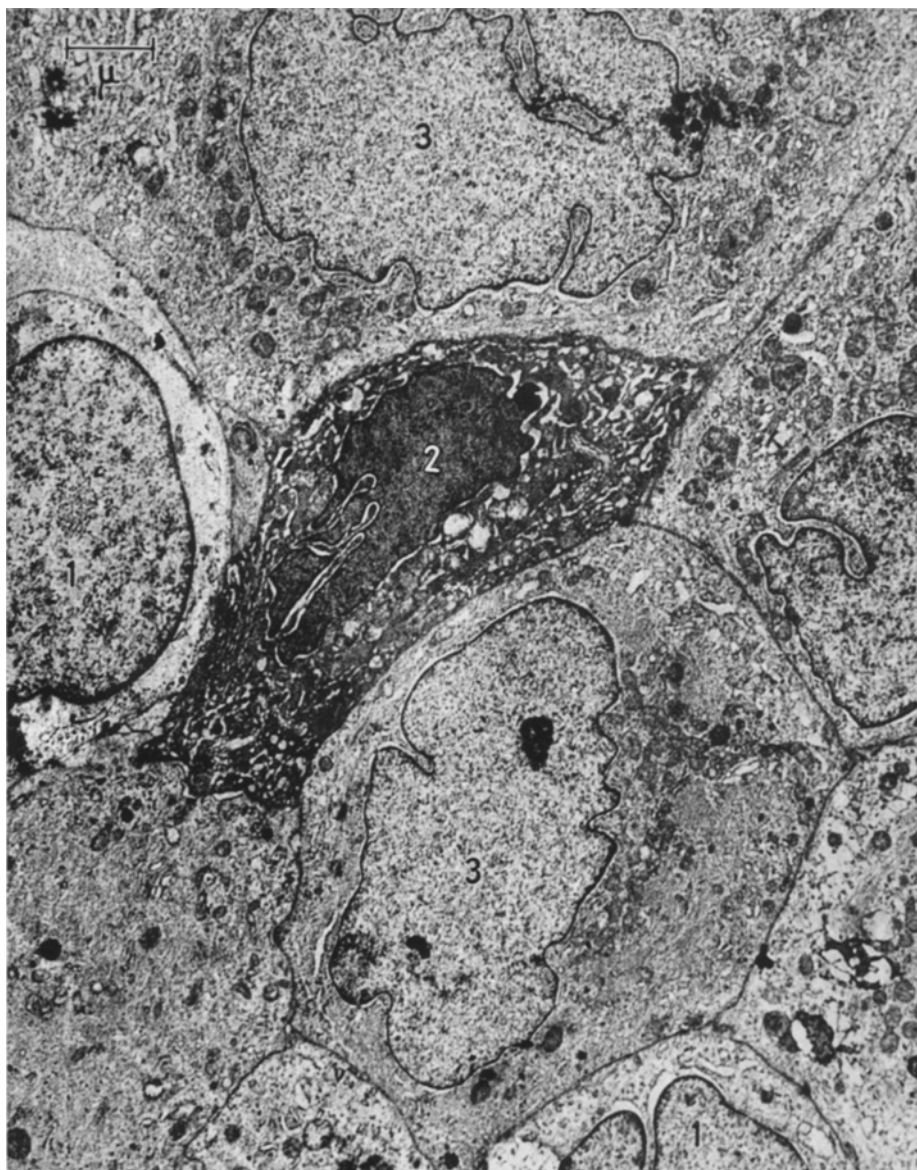


Abb. 2. Schnitt durch einen soliden Carcinomzellkomplex mit organellenarmen (1) und organellenreichen Zellen (2) sowie Übergangsformen (3).
2 Typische „dunkle Zellen“. Vergr. 1:12000

zeigen. Diese Veränderungen können unterschiedlich stark ausgeprägt sein. Bei den Mitochondrien beginnt die Schwellung mit einer Auflockerung der Matrix, sie runden sich ab, und die Cristae werden randständig. Schließlich platzt die äußere Membran, und die Mitochondrien stellen sich als einen durch eine einfache Membran umgebenen optisch leeren Raum dar. Ähnliche Schwellungserscheinungen lassen

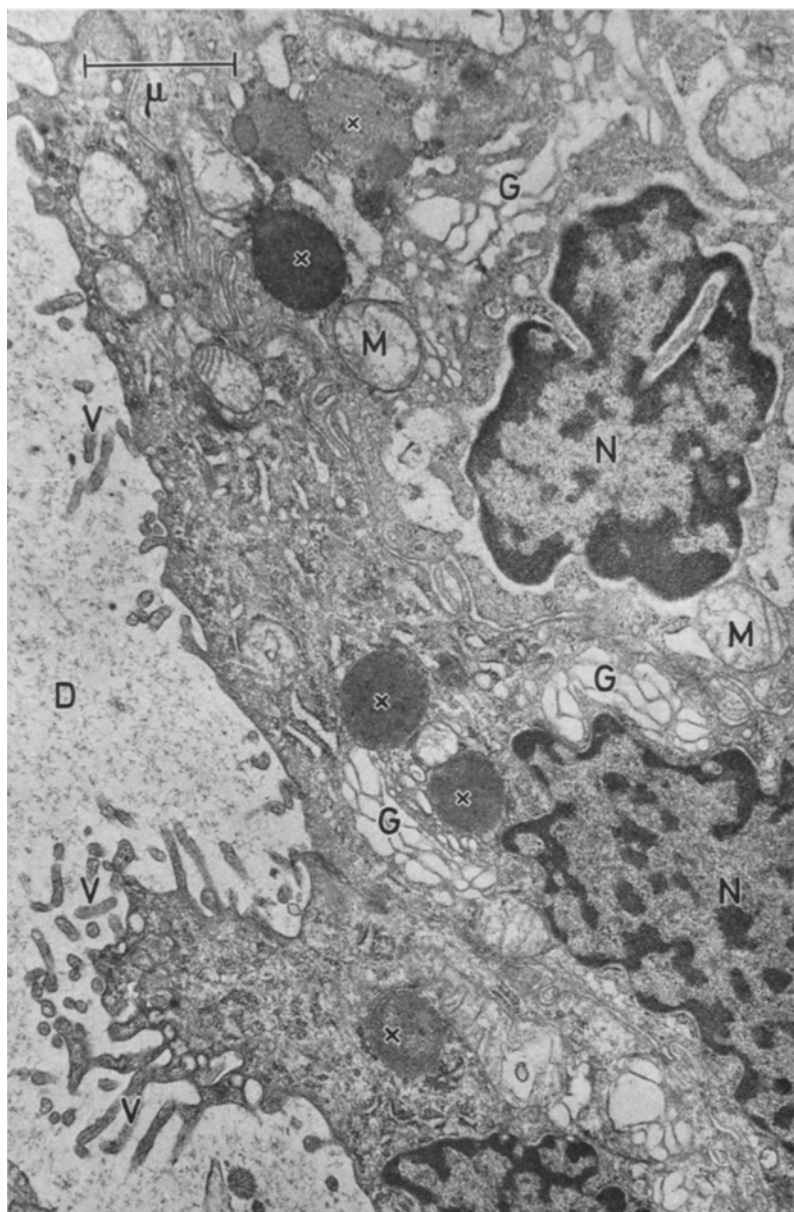


Abb. 3. Einen Ductus (D) begrenzende organellenreiche Carcinomzellen mit zahlreichen Mikrovilli (V), ausgeprägten Golgiapparaten (G) und mehreren Sekretgranula (+). M Mitochondrium. N Nucleus. Vergr. 1:20000

sich im Golgiapparat und im endoplasmatischen Reticulum verfolgen. Das endoplasmatische Reticulum zerfällt in einzelne abgerundete Bruchstücke und verliert dabei stellenweise den Ribosomenbesatz. Bei der Ausbildung dieses Zellhydrops nimmt die Dichte des Cytoplasma ebenfalls ab. Mitochondrienschwellungen sind

in beiden bisher beschriebenen Zelltypen zu beobachten, die Aufblähung des endoplasmatischen Reticulum ist naturgemäß nur bei den organellenreichen Zellen zu finden.

4. *Helle und dunkle Zellen* (Abb. 2). Unter den organellenreichen Zellen fallen bereits bei Übersichtsaufnahmen helle und dunkle Zellen auf. Bei höherer Vergrößerung stellt sich heraus, daß in beiden Zellarten die Struktur und der Gehalt an Organellen gleich sind. Der Unterschied liegt in der Dichte des Grundplasma. Die Konturierung der Kerne ist bei den dunklen Zellen unregelmäßiger, und das Karyoplasma zeigt ausgeprägte Chromatinverdichtungen. Die dunklen Zellen werden durch benachbarte helle Zellen häufig extrem polygonal verformt.

5. *Filamenthaltige Zellen* (Abb. 6, 7). In allen untersuchten Mammacarcinomen fanden wir Zellen, die Filamente im Cytoplasma enthielten. Ihre Dicke beträgt 50—80 Å. Sie kommen einzeln mit regellosem Verlauf oder parallel in kleinen Bündeln verlaufend vor. In einzelnen Zellen sind größere Areale des Cytoplasma von diesen Filamenten ausgefüllt. In diesen Bezirken, aber auch im übrigen Cytoplasma kommen nur wenige Zellorganellen vor. Bei einem Falle fiel auf, daß der Tumor vorwiegend aus solchen Zellen aufgebaut war. Hier war das Cytoplasma einzelner Zellen fast vollständig von dicht gepackten Filamentbündeln erfüllt.

6. *Besonderheiten*. Unabhängig von den beschriebenen Zelltypen kommen in Einzelzellen aller untersuchten Mammacarcinome Struktur-Besonderheiten vor. Zunächst sind *Kerneinschlüsse* zu erwähnen. Einige sind von einer typischen doppelten Membran umgeben und stellen somit cytoplasmatische Einstülpungen dar. Daneben lassen sich Einschlüsse darstellen, bei denen entweder keine oder nur eine einfache Membran nachzuweisen ist. Ihr Inhalt kann entweder homogen, von mittlerer Elektronendichte oder granulär sein. In einem Fall konnte ein membranbegrenzter Einschluß mit kokardenartiger Anordnung eines feingranulären Inhaltes beobachtet werden (Abb. 5a). *Einschlüsse* verschiedener Art sind auch im *Cytoplasma* nachweisbar. Ähnlich den Einschlüssen der lactierenden Mamma kommen membranbegrenzte bis zu $0,1\ \mu$ große Einschlüsse mit homogenem Inhalt vor. Gehäuft sind sie apikal in den Zellen anzutreffen, die Kanälchen begrenzen (Abb. 3) oder in der Nähe derselben gelegen sind (Abb. 4). Sie sind deshalb vergleichbar mit den proteinhaltigen Sekreteinschlüssen der lactierenden Mamma. Auch die von einer einfachen Membran begrenzten größeren Einschlüsse, die ein homogenes, elektronendichtes, z.T. vacuolig aufgehelltes Material enthalten, können in Analogie zur normalen Mamma als fetthaltige Sekreteinschlüsse gedeutet werden. Eine andere Gruppe von cytoplasmatischen Einschlüssen bietet die morphologischen Charakteristika von Lysosomen. Sie sind von einer einfachen Membran begrenzt und enthalten feingranuläres und membranartiges Material. Teilweise sind in ihnen Bruchstücke von Zellorganellen zu erkennen. Diese Form kann eine beträchtliche Größe erreichen (bis zu $10\ \mu$). Vereinzelt sind in solchen Lysosomen Kerne und größere Cytoplasmaanteile in Auflösung zu finden.

In manchen Tumoren sahen wir gehäuft Hohlräume innerhalb der Zelle, in die *Mikrovilli* hineinragen. Es handelt sich dabei um die bereits beschriebenen *intracytoplasmatischen Ductuli* (Abb. 4). Gleiche Mikrovilli finden sich an den Membranen der Zellen, die Ductus begrenzen (Abb. 3, 6). Die *Kontaktverhältnisse* der Carcinomzellen untereinander sind sehr wechselnd. Man findet alle Übergänge von epithelartig dicht gepackten Carcinomzellen bis zu einzeln im Bindegewebe

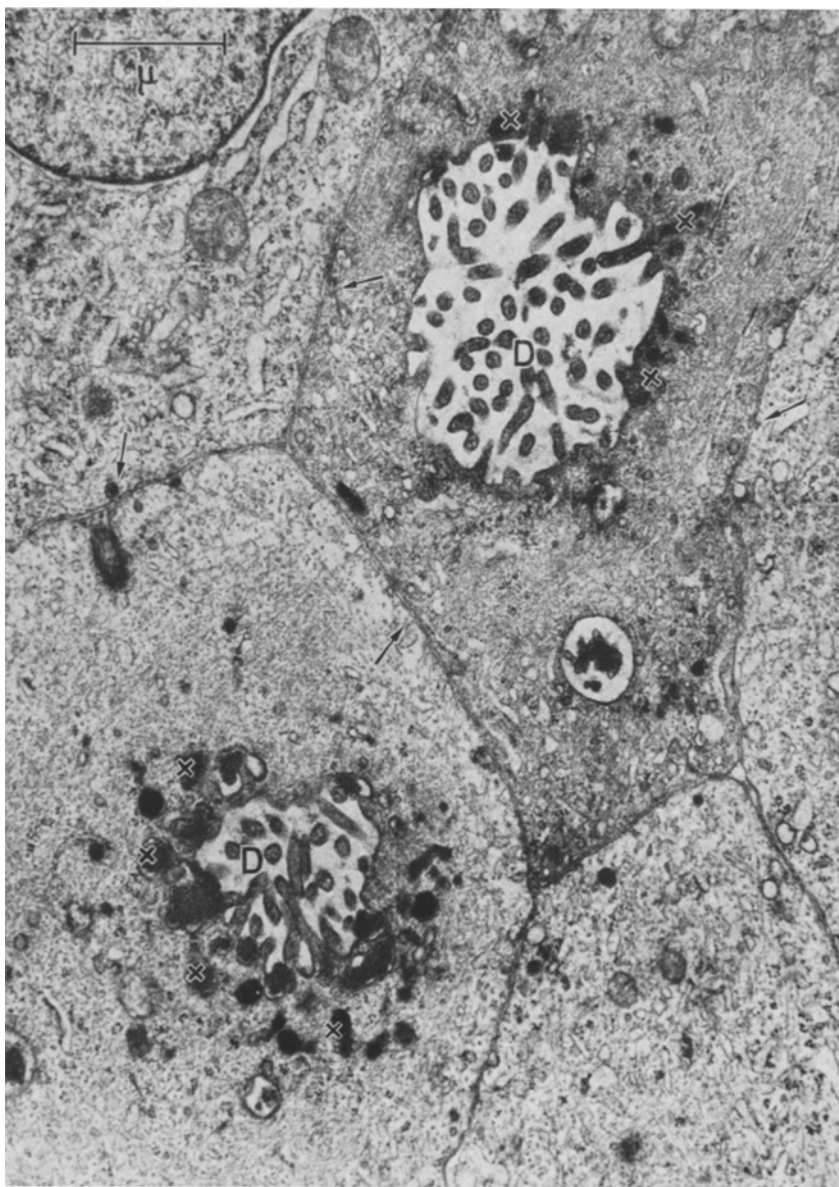


Abb. 4. Zwei intracytoplasmatische Ductuli (D) mit zahlreichen Mikrovilli. In der Umgebung Sekretgranula (+). Paralleler Verlauf der Membranen (↗) benachbarter Zellen. Vergr. 1:20 000

liegenden Tumorzellen. Im ganzen jedoch ist die Zelladhäsion im Vergleich zum normalen Epithelgewebe verringert (Abb. 4). *Desmosomen* und „*tight junctions*“ sind sehr selten zu finden. Typische *Zellverzahnungen* fehlen in manchen Tumoren völlig.

7. *Sexchromatin*. Bei allen elektronenmikroskopisch untersuchten Mammarcarcinomen wurde nach den Vorschlägen von KALLENBERGER (1964, 1967) der Sexchromatingehalt der Tumorzellkerne an Hand von Tupfpräparaten bestimmt.

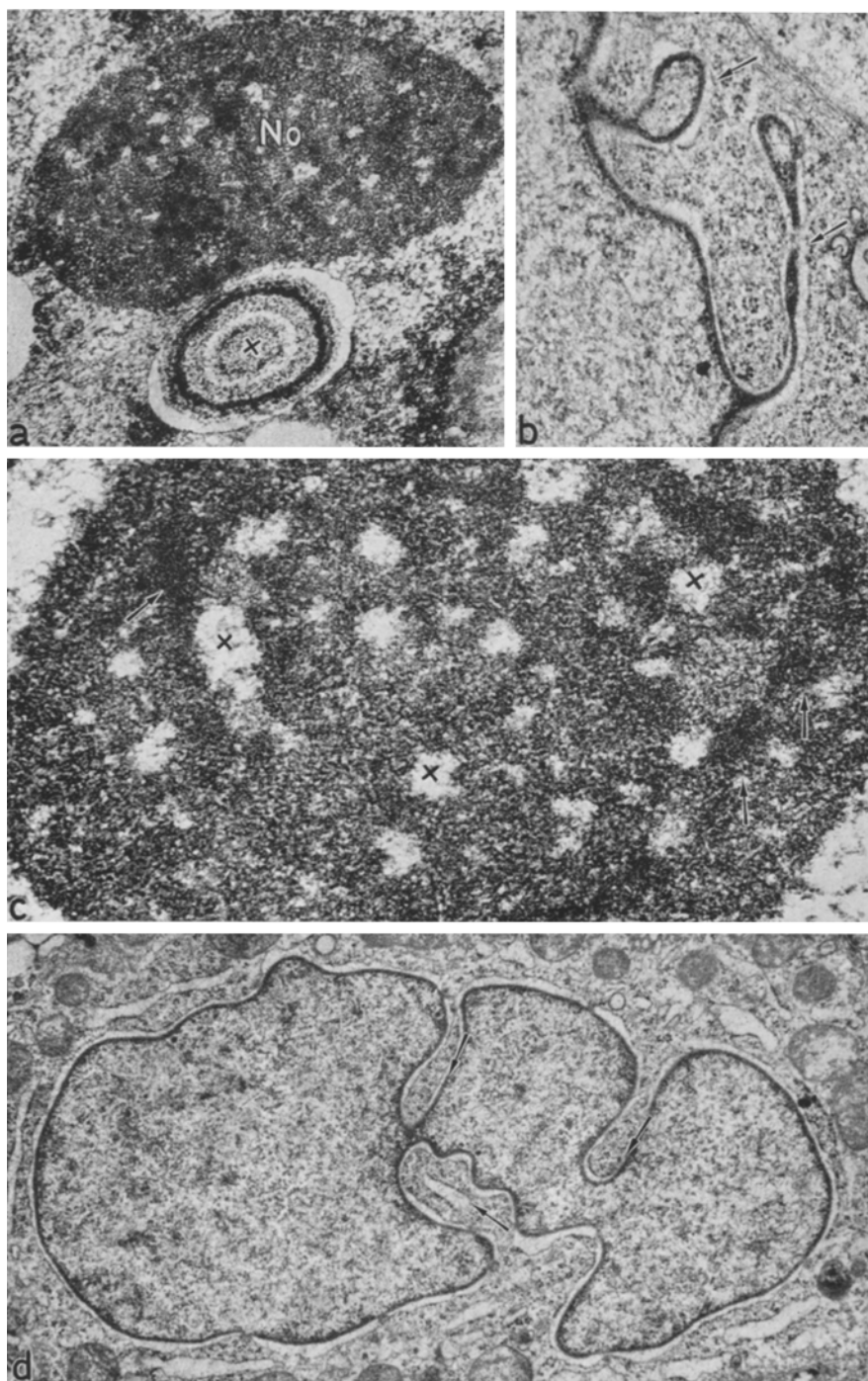


Abb. 5. a Kokardenartiger Einschluss (+) im Karyoplasma neben einem Nucleolus (No). Vergr. 1:18000. b Zwei dünn gestielte und langgestreckte Kernknospen (↗). Vergr. 1:30000. c Nucleolus einer Carcinomzelle mit Verdichtungszone (↗) und Vacuolen (+). Vergr. 1:56000. d Zahlreiche Kerneinstülpungen (↗) in den Kern einer Tumorzelle. Vergr. 1:15000

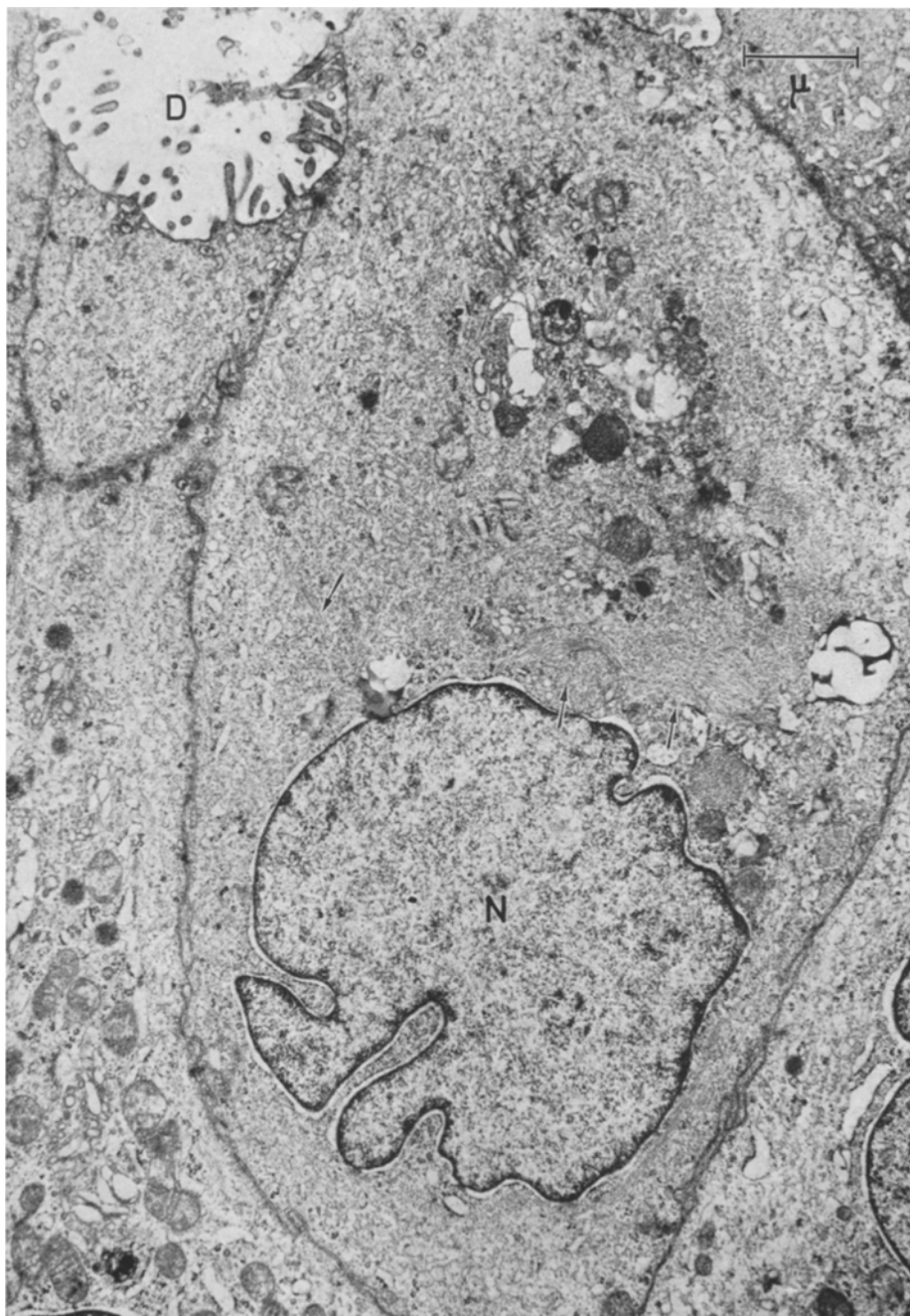


Abb. 6. Organellenarme Zelle mit einigen perinucleären Filamenten (\nearrow), an einen Ductus grenzend (D), N Nucleus. Vergr. 1:15000

In gut einem Drittel der Carcinome konnte dabei ein Verlust des Sexchromatines nachgewiesen werden. Nach vergleichenden Chromosomen-Analysen und DNS-

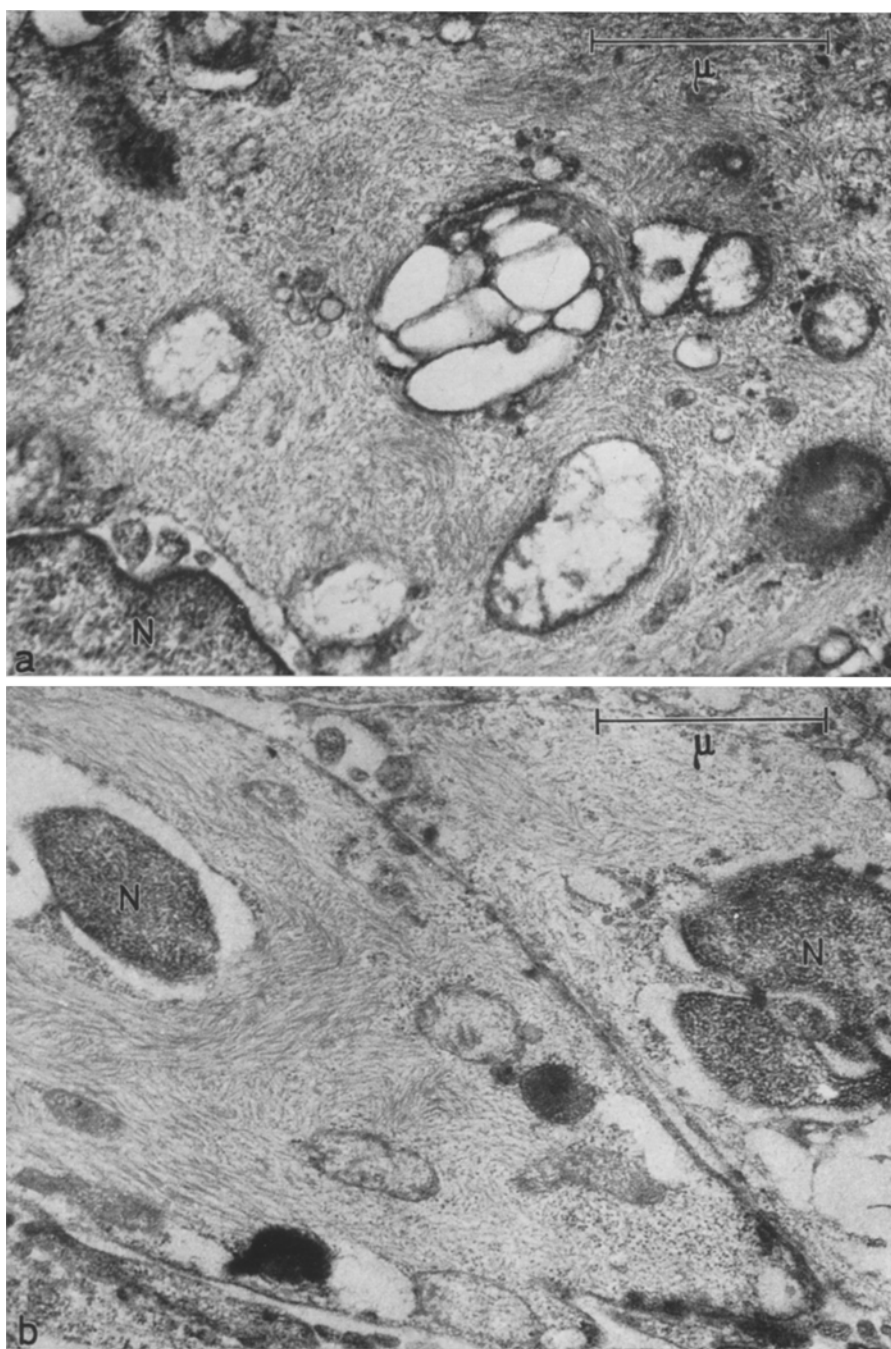


Abb. 7a und b. Zahlreiche dichtgebündelte Filamente im Cytoplasma von Mammacarcinomzellen. *N* Nucleus. Vergr. 1:20000

Messungen (ATKIN, 1964; KALLENBERGER, 1967; u.a.) ist dieser Sexchromatinverlust einer Polyploidie der Tumorzellkerne gleichzusetzen. Strukturbesonder-

heiten sexchromatinnegativer Kerne konnten elektronenmikroskopisch nicht nachgewiesen werden. Auch die mit der Polyploidie einhergehende Kernvergrößerung ist bei der Ultradünnschnitt-Technik der Elektronenmikroskopie nicht verifizierbar. Im Cytoplasma sexchromatinnegativer Tumorzellen sahen wir sowohl relativ zahlreiche Mitochondrien und ein reichlich entwickeltes endoplasmatisches Reticulum als auch andererseits eine starke Reduzierung der Zellorganellen. Demnach geht eine Änderung des chromosomalen Kernmusters nicht zwangsläufig mit einer entsprechenden Reaktion der Cytoplasmaorganellen einher.

8. *Zellverband*. Entsprechend den lichtmikroskopischen Kriterien sind auch elektronenmikroskopisch bei schwächerer Vergrößerung verschiedene Typen des Zellverbandes beim Mammacarcinom unterscheidbar. Jedoch nur selten sind bei dem räumlich begrenzten Untersuchungsfeld die histologischen Charakteristika der Carcinomtypen nach HULTBORN und TÖRNBERG (1960) wiederzufinden. In den meisten Fällen sind zahlreiche Tumorzellen dicht gepackt zu einem größeren soliden Zellkomplex zusammengelagert (Abb. 1). Nur gelegentlich sieht man ein- bis mehrreihige Zellstränge inmitten von faserreichem Bindegewebe. Bei querer Schnittrichtung scheinen in solchen Fällen die Carcinomzellen solitär im Bindegewebe zu liegen. Neben diesen entdifferenzierten Carcinomformationen können hin und wieder gleichzeitig Ductus beobachtet werden, deren Lumina von mehreren Zellen begrenzt werden (Abb. 3). In einem untersuchten Fall war das Lumen angefüllt mit Sekretgranula und membranlosem feingranulärem Material geringerer Elektronendichte. Es handelte sich dabei lichtmikroskopisch um ein ductuläres Carcinom vom Komedotyp. Charakteristisch ist die Zuordnung eines Zelltypus zu diesen histologischen Formationen insofern, als Ductus meist von organellenreichen und sekrethaltigen Zellen begrenzt werden, während in scirrhösen Strukturen vorwiegend organellenarme Zellen zu finden sind.

Ähnliche Beziehungen von Zelltypen ließen sich ebenfalls feststellen zu den übrigen lichtmikroskopischen Carcinomtypen (HULTBORN und TÖRNBERG, 1960). Homogene Carcinome sind in etwa zwei Dritteln der Fälle aus organellenreichen Zellen aufgebaut. Bei heterogenen Carcinomen dagegen sind häufiger organellenarme Zellen zu finden. Diese Tumoren zeigen lichtmikroskopisch in der Regel das Bild einer sog. Zellentdifferenzierung und daneben üblicherweise die histologischen Kriterien eines hohen Malignitätsgrades. Sie werden daher als prognostisch ungünstiger bewertet. Grundsätzlich lassen sich jedoch keine schlüssigen Korrelationen zwischen Organellenausstattung der Tumorzellen und dem histologisch definierten Malignitätsgrad des jeweiligen Carcinoms feststellen. Desgleichen bestehen keine signifikanten Beziehungen zwischen dem Ribosomengehalt der Zellen und dem Malignitätsgrad oder dem histologischen Typ des Carcinoms.

Diskussion

In den untersuchten Mammacarcinomen fällt auf, daß unabhängig von den lichtmikroskopischen Kriterien bestimmte Zelltypen zu unterscheiden sind, die in allen untersuchten Tumoren nachgewiesen werden konnten: 1. Tumorzellen mit wenigen und 2. Tumorzellen mit einer großen Zahl von Zellorganellen im Cytoplasma. Daneben kommen Tumorzellen vor, in denen entweder die Mitochondrien allein oder auch alle anderen Hohlraumssysteme vacuolig aufgebläht sind.

Eine ähnliche Trennung der verschiedenen Tumorzelltypen ist schon von HAGUENAU (1959) vorgenommen worden (s. auch DAVID, 1967). Der organellenreichen Zelle entspricht die A-Zelle, die B-Zelle dagegen enthält nur wenig Zellorganellen. Die vacuolisierte Zelle wird in diesen Arbeiten als dritter Zelltyp aufgeführt. HAGUENAU (1959) leitet die im Tumor vorkommenden A- und B-Zellen von entsprechenden Zellen in der normalen Mamma her. Hier finden sich über den basalen Myoepithelien organellenreiche A-Zellen, denen zum Lumen hin organellenarme B-Zellen aufsitzen können. Wenn in der gesunden Brustdrüse beide Zellarten Modulationen eines Grundtypus sind, wäre ihr Vorkommen im Tumor durchaus erklärbar.

Andererseits kann gerade im Tumor der wechselnde Gehalt an Organellen mit einem unterschiedlichen Differenzierungsgrad in Beziehung gesetzt werden (BEHNKE 1963; BIRBECK und MERCER, 1961; PORTER, 1961). Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von Zellen während der Differenzierung, z.B. im Knochenmark, im Embryo und in der Kultur, prägen sich typische morphologische Kennzeichen im Cytoplasma aus. Es ist deshalb durchaus möglich, die Zellen des Mammacarcinoms mit ihrem wechselnden Gehalt an Zellorganellen in dieses morphologische Differenzierungsschema einzuordnen. Das würde bedeuten, daß die Zellen mit viel Organellen eine höhere Differenzierungsstufe erreicht haben.

Die von HAGUENAU (1959) ebenfalls beschriebenen vacuolisierten Zellen dürfen nach unserer Ansicht nicht als besonderer Zelltyp den bisher beschriebenen Tumorzellen zur Seite gestellt werden. Aus einer Reihe von elektronenmikroskopischen Untersuchungen ist bekannt, daß gerade die Struktur von Tumorzellmitochondrien gegenüber präparationsbedingten Eingriffen außerordentlich empfindlich sind (MINTZ et al., 1967). Von vielen Autoren wird daher die Mitochondrienschwellung als spezifisches Kennzeichen der Malignität angesehen. Andererseits sind auch in normalen Geweben bei Störungen der oxydativen Phosphorylierung Mitochondrienschädigungen dargestellt worden. Besonders bei Sauerstoffmangel infolge Durchblutungsstörungen kommen Mitochondrienschwellungen vor (ALTMANN, 1955; MERKER et al., 1964; MÖLBERT, 1961; NEUBERT und MERKER, 1965; THOENES, 1966; WEDELL et al., 1965). Es liegt die Annahme nahe, daß im Carcinomgewebe deshalb solche Mitochondrienschwellungen häufig angetroffen werden, weil viele Tumoren schlecht durchblutet werden. Aus diesem Grunde ist die Abgrenzung vacuoliger Zellen als selbständiger Zelltyp nicht berechtigt.

In vielen elektronenmikroskopischen Beschreibungen von malignen Tumoren werden helle und dunkle Zellen unterschieden. Diese Einteilung wird auch für das Mammacarcinom übernommen. Derartige Dichteunterschiede des Cytoplasma kommen aber in vielen anderen nicht malignen Geweben vor (v. KEYSERLINGK, 1967; NEMETSCHKE-GANSLER, 1965). Sie entstehen durch Wasserabgabe in das Interstitium als supravitale Reaktion auf das eindringende Fixierungsmittel. Das Auftreten von hellen und dunklen Zellen im Carcinom stellt somit kein spezifisches Kennzeichen eines Tumors dar.

Häufig kommen Filamente einzeln oder gebündelt im Cytoplasma vor, die von verschiedenen Autoren auch in anderen Tumoren beschrieben worden sind. Schon in der normalen Mamma finden sich jedoch filamentreiche Zellen, sog. Myoepithelien (LANGER und HUHN, 1958). Das Auftreten besonders zahlreicher und gebündelter Filamente in Tumorzellen eines untersuchten Carcinomfalles läßt

daran denken, daß im Gegensatz zur Annahme von GÖGL und LANG (1957) auch diese Zellen maligne entarten können. Diese Möglichkeit wurde bereits von HAMPERL (1940) anlässlich des Berichtes über Untersuchungen von gutartigen myoepithelialen Tumoren diskutiert.

Auf das häufige Vorkommen einer Vergrößerung der inneren und äußeren Oberfläche von Tumorzellen ist bereits in verschiedenen Veröffentlichungen hingewiesen worden (BERNHARD, 1961; MERKER et al., 1966; WESSEL, 1958). Allerdings kann keine lineare Beziehung zwischen der Höhe des Kern-Cytoplasma-Austausches und der Ausdehnung der Kernoberfläche hergestellt werden. Schnell wachsende und sich differenzierende Zellen von Embryonen und Gewebekulturen, in denen dieser Austausch besonders ausgeprägt ist, zeigen nämlich im Gegensatz dazu häufig einen völlig glatten Kernkontur. Den beschriebenen leisten- und fingerförmigen Einstülpungen in den Kern scheint deshalb eine gewisse Tumorspezifität zugeschrieben werden zu können. Zweifellos spielen aber beim Abstrom von Substanzen aus dem Kern in das Cytoplasma auch Zahl, Größe und Beschaffenheit der Kernporen eine wichtige Rolle (BERNHARD, 1958). Über ihr Verhalten in Tumoren ist leider noch nichts Sicheres bekannt. Ein großer Teil der übrigen Kerneinschlüsse, die nicht durch eine typische Doppelmembran vom Karyoplasma abgegrenzt werden, gehen nach den Untersuchungen von THOENES (1964) ebenfalls aus cytoplasmatischen Einschlüssen hervor.

Für den malignen Charakter einer Zelle sprechen ferner die Kernsprossungen. Diese Vorgänge sind aber nicht im Sinne einer Oberflächenvergrößerung zu erklären. Eher zeigen sie den Versuch einer frustranen bzw. amitotischen Teilung an oder sind Ausdruck der Polyploidie dieser Zellen. Auch die Morphologie der Nucleoli scheint zur Diagnose einer malignen Entartung ausgenutzt werden zu können. Zwar findet sich eine Nucleolusvergrößerung bei allen Zellen, die im Kern Zeichen einer vermehrten RNS-Synthese aufweisen. Doch kommt eine wabenförmige Aufhellung (Nucleolusvacuolen) gehäuft in Tumoren vor (BERNHARD, 1961).

Als morphologisches Substrat der Zelladhäsion gelten die Haftpunkte (Desmosomen) und die Verzahnungen. Zweifellos vermindert sich diese Haftung der Zellen in den meisten untersuchten Tumoren. Die Zahl der Desmosomen nimmt ab, und Verzahnungen sind streckenweise nicht mehr nachzuweisen. Damit kann auch die Fähigkeit der Tumorzellen erklärt werden, sich leicht aus dem Zellverband zu lösen. Sicher kann das Fehlen von Verzahnungen und Desmosomen auf langen Strecken ebenfalls für den malignen Charakter einer Zelle sprechen.

Mit einer Veränderung der Zellmembraneigenschaften kann auch die bereits beschriebene Fähigkeit der Tumorzelle zur Phagocytose erklärt werden. In einigen Zellen konnte sogar eine Phagocytose und beginnende Auflösung ganzer Tumorzellen gesehen werden.

Aus den geschilderten Befunden geht hervor, daß bei Betrachtung einer genügend hohen Zahl von Tumoren und Tumorzellen gemeinsame morphologische Kriterien erarbeitet werden können, die eine Unterscheidung gegenüber normalem Mammagewebe ermöglichen. Dabei zeigt die Einzelzelle selbst elektronenmikroskopisch keine eindeutigen qualitativen Charakteristika der Malignität. Dieser Befund entspricht den physiologisch-chemischen Ergebnissen über den Stoffwechsel der Krebszellen allgemein. Die Zellfermente sind im malignen Gewebe qualitativ nicht

verändert, sondern nur in ihrer Konzentration verringert (PÜTTNER, 1966). Dies gilt insbesondere auch für das Mammacarcinom: Je entdifferenzierter das Carcinom ist, desto geringer ist sein Gehalt an Enzymen des Citronensäurecyclus (MEIER-RUGE, 1966).

Elektronenmikroskopisch gibt es bis jetzt kein sicheres qualitatives Zeichen für die Malignität der Einzelzelle. Im Mammacarcinom kann elektronenmikroskopisch lediglich eine quantitative Differenz, nämlich der unterschiedliche Organellenreichtum der Zellen, als Differenzierungsgrad bewertet werden und damit Hinweise auf die Abartigkeit des Zelltypus geben. Andererseits muß ein relativ hoher Differenzierungsgrad der Zelle nicht gleichbedeutend mit einer geringeren Proliferationstendenz sein, die nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen am Ribosomenreichtum des Cytoplasma ablesbar ist. Wir sahen nämlich, daß organellenarme Zellen in der Regel nur wenige Ribosomen aufweisen, während in relativ organellenreichen Carcinomzellen sowohl eine hohe als auch eine niedrige Anzahl von Ribosomen zu finden ist. Dies spricht wie vieles andere dafür, daß die Prognose der „Carcinomkrankheit“ für den Gesamtorganismus weder allein von der Abartigkeit der Carcinomzelle noch allein von ihrer Proliferationskraft abhängig ist. Zudem ermöglicht die Berücksichtigung der Wechselbeziehung zwischen Tumor und Abwehrreaktion des Organismus eine prognostisch wertvolle Aussage.

Literatur

- ALTMANN, H. W.: In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II, 1. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- ATKIN, N. B.: Die chromosomale Basis von Sexchromatinabweichungen in menschlichen Tumoren. Wien. klin. Wschr. **76**, 859 (1964).
- BÄSSLER, R., u. W. G. FORSSMANN: Experimenteller Strukturwandel der Drüsenzelle durch Hormonwirkung. Verh. dtsch. Ges. Path. **48**, 240—245 (1964).
- BARGMANN, W., u. A. KNOOP: Über die Morphologie der Milchsekretion. — Licht- und elektronenmikroskopische Studien an der Milchdrüse der Ratte. Z. Zellforsch. **49**, 344—388 (1958).
- BARTON, A. A.: An electron study of human breast cells in Fibroadenosis and Carcinoma Brit. J. Cancer **18**, 682—685 (1964).
- BEHNKE, O.: Helical arrangement of ribosomes in the cytoplasm of differentiating cells of the small intestine of rat fetuses. Exp. Cell. Res. **30**, 597—599 (1963).
- BERGER, H.: Beitrag zur elektronenoptischen Zelldifferenzierung des soliden Mammarkarzinoms und der Mastopathia cystica des Menschen. Z. Krebsforsch. **66**, 73—86 (1964).
- BIRBECK, M. C. S., and E. H. MERCER: Cytology of cells which synthesize protein. Nature (Lond.) **189**, 558—560 (1961).
- BERNHARD, W.: Ultrastructural aspects of the nucleocytoplasmic relationship. Exp. Cell Res., Suppl. **6**, 17—50 (1959).
- Elektronenmikroskopischer Beitrag zum Studium der Kanzerisierung und der malignen Zustände der Zelle. Verh. dtsch. Ges. Path. **45**, 8—37 (1961).
- BUSCH, A., u. K. KLOOS: Therapieprobleme des Mammarkarzinoms gemessen an primärer Strahlenreaktion und Letalität. Dtsch. med. Wschr. **92**, 53—57 (1967).
- DAVID, H.: Elektronenmikroskopische Organpathologie. Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit 1967.
- , u. N. MANGAKIS: Zur Frage des invasiv-infiltrativen Wachstums von Krebszellen. Submikroskopische Untersuchungen an menschlichen Mammarkarzinomen. Arch. Geschwulstforsch. **22**, 92—105 (1963).
- GÖGL, H., u. F. J. LANG: Brustdrüse. In: E. KAUFMANN u. M. STAEMMLER, Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, S. 359—404 Berlin: Gruyter & Co. 1957.

- HAGUENAU, F.: Le cancer mammaire de la souris et de la femme. Étude comparative au microscope électronique. *Path. et Biol.* **7**, 989—1015 (1959).
- , et J. ARNOULT: Le cancer du sein chez la femme. Etude comparative au microscope électronique et au microscope optique. *Bull. Ass. franç. Cancer* **46**, 177—211 (1959).
- HAMPERL, H.: Über die Myothelien (myo-epitheliale Elemente) der Brustdrüse. *Virchows Arch. path. Anat.* **305**, 171—215 (1940).
- HOLLMANN, H. H.: L'ultrastructure de la glande mammaire normale de la souris en lactation. *J. ultrastruct. Res.* **2**, 423—443 (1959).
- HULTBORN, K. A., and B. TÖRNBERG: Mammary carcinoma. *Acta radiol. (Stockh.) Suppl.* **196** (1960).
- KALLENBERGER, A.: Geschlechtschromatin bei Mammacarcinomen. *Schweiz. med. Wschr.* **94**, 1450—1458 (1964).
- Die Beurteilung der Mammakarzinome nach dem Gehalt an Kernen mit Geschlechtschromatin und Heterochromatin. *Wien. klin. Wschr.* **76**, 873—874 (1964).
- Z. DOLINAR u. A. HAGMANN: Beziehungen zwischen Sexchromatinvorkommen, Kerngröße und DNS-Werten in Mammatumoren und ihre Bedeutung für die Überlebenszeit. *Schweiz. med. Wschr.* **97**, 678—682 (1967).
- KEYSERLINGK, A. V.: Arbeit aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin. (In Vorbereitung).
- LANGER, E., u. S. HUHN: Der submikroskopische Bau der Myoepithelzelle. *Z. Zellforsch.* **47**, 507—516 (1958).
- MEIER-RUGE, W.: Die diagnostische Bedeutung des Sexchromatingehaltes in Relation von Enzymhistochemie, DNS-Gehalt und Mitoseindex beim Mammakarzinom. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **50**, 330—335 (1966).
- MERKER, H. J., G. PALME u. E. LISS: Membranstrukturen in den Kernen von Ehrlich-Ascitestumorzellen nach Einwirkung von Cyclophosphamid (Endoxan). *Naturwissenschaften* **53**, 229—230 (1966).
- J. WEDELL u. D. NEUBERT: Biochemische und strukturelle Veränderungen an den Zellorganellen der Leber nach vollständiger Kreislaufunterbrechung. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* **249**, 85—116 (1964).
- MINTZ, H. A., D. H. YAWN, B. SAFER, E. BRESNICK, A. G. LIEBELT, Z. R. BLALOCK, E. R. RABIN, and A. SCHWARZ: Morphological and biochemical studies of isolated mitochondria from fetal, neonatal and adult liver and from neoplastic tissues. *J. Cell Biol.* **34**, 513—532 (1967).
- MOELBERT, E.: Die Herzmuskelzelle nach akuter Oxydationshemmung im elektronenmikroskopischen Bild. *Beitr. path. Anat.* **118**, 421—435 (1957).
- MOHR, H. J.: Morphologie und submikroskopische Struktur der spontanen Mammacarcinome bei NMRJ- und Prägmäusen. *Frankfurt. Z. Path.* **72**, 331—352 (1963).
- Der Strukturwandel des spontanen Mammacarcinoms der NMRJ-Maus im homologen Transplantat. *Frankfurt. Z. Path.* **73**, 67—96 (1963).
- NEMETSCHKE-GANSLER, H.: Zur Ultrastruktur des Hypophysen-Zwischenhirnsystems der Ratte. *Z. Zellforsch.* **57**, 844—862 (1965).
- NEUBERT, D., and H. J. MERKER: Some effects of toxins from microorganisms on mammalian cellular metabolism and structure. In: *Recent advances in the pharmacology of toxins. Proc. of the second Internal Pharmacological meeting*, 9—26. Oxford - London - New York - Paris: Pergamon Press 1963.
- ONOE, T.: Electron microscopic studies of human carcinoma. *J. Elektronmicr.* **11**, 70—84 (1962).
- PIPAN, N.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Differenzierung des embryonalen Pankreas der Maus. *Z. Zellforsch.* **52**, 291—314 (1960).
- PORTER, K. R.: The ground substance. In: *The cell*, vol. II, p. 621—675 (ed. by BRACHET and MIRSKY). New York and London: Acad. Press 1961.
- PÜTTER, J.: Der Glucosestoffwechsel bei bösartigen Tumoren. In: H. BARTHELHEIMER, W. HEYDE u. W. THORN, D-Glucose und verwandte Verbindungen in Medizin und Biologie. Stuttgart: Ferdinand Enke 1966.
- SCHULZ, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen eines Mammakarzinoms der Ratte. *Oncologia (Basel)* **10**, 307—329 (1957).

- SCHWARZ, W.: Die Entwicklung des endoplasmatischen Retikulums in embryonalen Leberzellen des Menschen. *Verh. Dtsch. Ges. Anat., Erg.-Heft* **112** zum *Anat. Anz.* 184—194 (1963).
- THOENES, W.: Fett im Nukleolus. *J. Ultrastructure Res.* **10**, 194—206 (1964).
- Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie. *Zwangl. Abh. Geb. norm. und path. Anat.*, H. 15. (Hrsg. W. BARGMANN u. W. DOERR). Stuttgart: Georg Thieme 1964.
- WAUGH, D., and E. VAN DER HOEVEN: The fine structure of the human adult female breast. *Lab. Invest.* **11**, 220—228 (1962).
- WEDELL, J., H. J. MERKER u. D. NEUBERT: Mitochondrienstruktur und Atmungskettenphosphorylierung im Herzmuskel nach vollständiger Kreislaufunterbrechung. *Virchows Arch. path. Anat.* **338**, 355—370 (1965).
- WELLINGS, S. R., K. B. DEOME, and D. R. PITELKA: Ultrastructure of the lactating mammary gland. *J. nat. Cancer Inst.* **25**, 393—421 (1960).
- , and P. ROBERTS: Electron microscopy of sclerosing adenosis and infiltrating duct carcinoma of the human mammary gland. *J. nat. Cancer Inst.* **30**, 269—280 (1963).
- WESSEL, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen von intranukleären Einschlusskörperchen. *Virchows Arch. path. Anat.* **331**, 314—327 (1958).

Dr. WOLFGANG BUSCH
I. Universitäts-Frauenklinik
1 Berlin 19, Pulsstr. 4

Corrections

To the paper BENGT ROBERTSON:

“The Neonatal Intrapulmonary Arterial Pattern in Transposition of the Great Arteries”.

Virchows Archiv Abt. A, Pathologische Anatomie Vol. 344, pp. 213—229 (1968).

Case A 120, as referred to in the text and in Tables 1, 2, 4 and 5, has the age of 1 month and 10 days, not 10 days as erroneously stated. The same correction holds for Figs. 5 and 7, which both concern Case A 120.