

## Licht- und elektronenoptische Untersuchungen zur sekretorischen Aktivität von Hypophysenadenomen bei Akromegalie\*

W. Saeger

Pathologisches Institut der Universität Hamburg  
(Direktor: Prof. Dr. med. G. Seifert)

Eingegangen am 4. August 1972

### Light- and Electron Microscopic Studies of Pituitary Adenomas in Acromegaly with Regard to Their Secretory Activity

*Summary.* Eleven pituitary adenomas in patients with acromegaly were examined with special reference to their secretory activity. The adenomas with high secretion of growth hormone were histologically characterized by well-developed vascularization, sparsely acidophilic granulation of the cytoplasm, and pleomorphism of the nuclei. Ultrastructural findings were a well-developed rough-surfaced endoplasmatic reticulum, a large, double Golgi-complex, relatively densely packed cytoplasmatic organelles, more immature than mature secretory granules, and only a few products of granule-degradation. Two adenomas showed signs of high activity histologically only but this was not confirmed by ultrastructural examination. The two were recurrent adenomas; therefore we suppose that pleomorphism of the nuclei in association with an increased number of mitoses must be interpreted as sign of increased rate of tumor growth and not of secretory activity. Comparison of the morphological degree of secretory activity with the preoperative plasma level of growth hormone yielded a good degree of correlation in 9 of 10 cases.

*Zusammenfassung.* 11 Hypophysenadenome von Patienten mit Akromegalie wurden licht- und elektronenoptisch mit spezieller Fragestellung nach der sekretorischen Aktivität untersucht. Bei hoher Hormonausschüttung zeigten die Adenome histologisch besonders eine verstärkte Vascularisation, eine geringe acidophile Granulierung des Cytoplasmas und deutliche Kernpolymorphismen, ultrastrukturell eine Vermehrung des rauen endoplasmatischen Reticulum, weite und gedoppelte Golgifeldder sowie einen vermehrten Organellenreichtum, außerdem mehr unreife Sekretgranula und kaum Granulaabbauprodukte. 2 Adenome boten histologisch ausgeprägte Aktivitätszeichen, die sich ultrastrukturell nicht verifizieren ließen. Da es sich um Adenomrezidive handelt, wird angenommen, daß die Kernpolymorphismen zusammen mit der erhöhten Mitoserate in diesen Fällen als Zeichen einer erhöhten Wachstumsrate zu werten sind. Ein Vergleich der morphologischen Aktivitätsgrade mit dem präoperativen, klinisch ermittelten Plasma-STH-Werten ergibt in 9 von 10 Fällen eine Übereinstimmung.

Radioimmunologische Bestimmungsmethoden für das Wachstumshormon STH (Utiger *et al.*, 1962; Glick *et al.*, 1963) ermöglichten es, den Schweregrad einer Akromegalie quantitativ aus der Höhe des Plasma-STH-Spiegels zu erfassen.

\* Mit Unterstützung durch den Sonderforschungsbereich Endokrinologie (SFB 34) der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Im strukturellen Bereich führten erst verbesserte histologische Aufarbeitungstechniken und besonders die Elektronenmikroskopie dazu, endokrin aktive oder inaktive Hypophysenadenome durch morphologische, auf eine sekretorische Aktivität hinweisende Merkmale differenzieren zu können. Vergleiche der morphologischen Befunde mit den präoperativen Hormonwerten im Plasma sind uns aus der Literatur nicht bekannt.

In dieser Arbeit soll daher versucht werden, aus der licht- und elektronenoptischen Struktur der Adenome bei Akromegalie Hinweise auf die sekretorische Aktivität der Adenomzellen abzulesen und die Ergebnisse mit den klinisch ermittelten STH-Werten zu korrelieren.

### Material und Methodik

Zur Untersuchung gelangten 11 Hypophysenadenome von Patienten mit Akromegalie, die auf transnasalem-transsphenoidalem Zugangsweg operiert worden waren<sup>1</sup>. Die präoperative Diagnostik hatte in allen Fällen eine sichere Akromegalie ergeben<sup>1</sup>. Bei 10 Patienten war präoperativ der STH-Spiegel im Plasma nach Glucosebelastung radioimmunologisch bestimmt worden<sup>1</sup>. Für die histologische Untersuchung wurde das Hypophysengewebe in neutralem Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und nach Haematoxylin-Eosin, Azan, PAS und Perameisensäure-Alcianblau-PAS-Orange G nach Adams und Swettenham (1958) gefärbt. Für die Elektronenmikroskopie wurden durchschnittlich 12 Gewebstücke von jedem Adenom aufgearbeitet: Fixierung in 3% Glutaraldehyd/Cacodylatpuffer bei einem pH von 7,2 bis 7,4, Nachfixierung in s-Collidin-gepuffertem Osmiumtetroxyd, Einbettung in Epon 812, Anfertigung von toluidinblaugefärbten Semidünnschnitten. Nach der Befunderhebung an den Semidünnschnitten wurden die Feinschnitte so ausgewählt, daß sie unterschiedlich strukturierte Zellen (Abb. 1b) in einem Verhältnis enthielten, das etwa dem des jeweiligen Semidünnschnittes entsprach. Die Feinschnitte wurden auf dem Ultramikrotom Reichert hergestellt und in alkoholischem Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Mikroskopiert wurde mit dem Zeiss-Elektronenmikroskop EM 9a. Dabei wurden die Feinschnitte mit gleicher Vergrößerung ausgiebig photographiert und die Photos vergleichend ausgewertet.

### Befunde

Die für die histologische Beurteilung der Aktivität wesentlichen Befunde der 11 Hypophysenadenome (Abb. 1a) sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt. Zur Beurteilung der Granulierung dienten die Semidünnschnitte von dem in Epon eingebetteten Tumorgewebe (Abb. 1b).

Die ultrastrukturellen Befunde, soweit sie für die Beurteilung der sekretorischen Aktivität von Bedeutung sind, finden sich in der Tabelle 2. Aus einem Vergleich der Tabellen 1 und 2 ergibt sich für die Mehrzahl der Fälle eine Übereinstimmung zwischen den licht- und elektronenmikroskopischen Befunden.

Auf die übrigen ultrastrukturellen Befunde, die keine direkte Beziehung zur funktionellen Aktivität besitzen, soll an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden, da die generelle Ultrastruktur acidophiler Hypophysenadenome vielfältig beschrieben worden ist (Gusek, 1961, 1962; Schelin, 1962; Fukumitsu, 1964; Zambrano *et al.*, 1968; Pelletier und Einstein, 1971).

<sup>1</sup> Wir danken Herrn Prof. Dr. Kautzky (Direktor der Neurochirurgischen Abteilung) für die Überlassung des Gewebematerials, Herrn Prof. Dr. Nowakowski (Geschäftsführender Direktor der II. Medizinischen Universitätsklinik) für die Überlassung der klinischen Angaben und Herrn Dr. Stahnke (Universitätskinderklinik) für die STH-Werte.

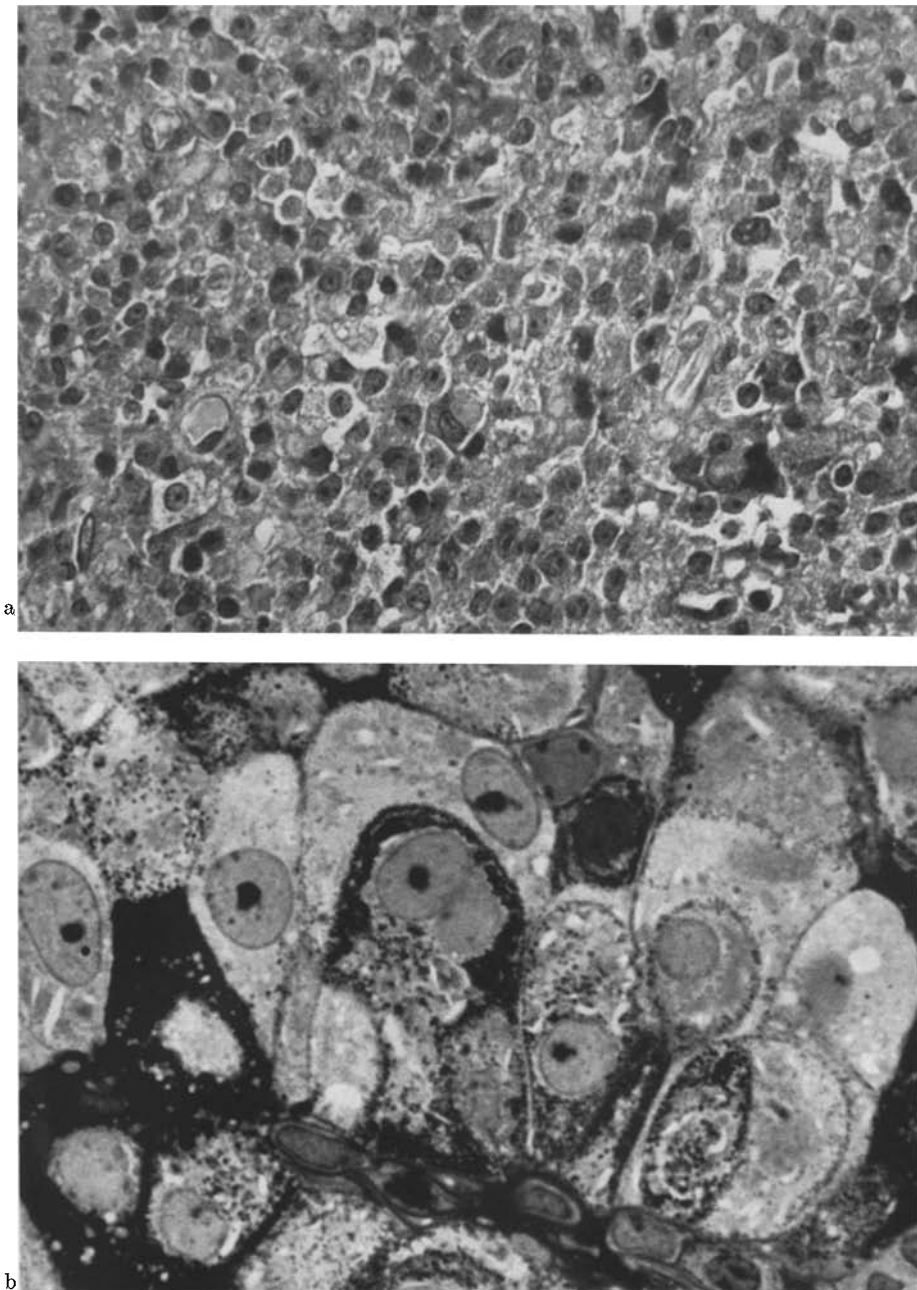


Abb. 1. a (Fall 2). 70 % gering bis mittelgradig granulierte Zellen, 30 % ungranulierte Zellen, Polymorphie der Zellkerne mit unterschiedlichem Chromatingehalt, ausgeprägter Capillarreichtum, Zellnekrosen und oedematöses Interstitium. Haematoxylin-Eosin. Vergr.  $490\times$ . b (Fall 9). 60 % gering bis voll granulierte Zellen, 40 % ungranulierte Zellen, überwiegend ovale Zellkerne mit prominenten Nucleoli, tangential angeschnittene Capillare. Toluidinblau (Semidünnschnitt). Vergr.  $1380\times$

Tabelle 1. Histologische Befunde zur Bewertung der Adenomaktivität

Fall	Kerne			Cytoplasma		Vasculari- sation	Nekro- sen	Aktivi- täts- grad
	Chro- matin- gehalt	Poly- mor- phie	Vaku- olen	acido- phile Granu- lierung <sup>a</sup>	keine Granu- lierung			
1	++	++	+	++ 90%	10%	++	—	+
2	++	+++	+	++ 70%	30%	+++	+	+++
3	+++	++	+	+++ 90%	10%	++	—	+
4	+	+	—	++ 70%	30%	+++	+	++
5	+	—	—	++ 90%	10%	++	+	+
6	++	++	—	++ 80%	20%	++	—	+
7	++	++	—	++ 70%	30%	++	++	++
8	++	++	+	++ 80%	20%	++	+	++
9	++	+	++	++ 60%	40%	++	+	+
10	+++	++	—	++ 90%	10%	++	+	++
11	++	++	—	++ 50%	50%	+	+	+

+ = Gering, ++ = deutlich bis ausgeprägt, +++ = stark ausgeprägt.

<sup>a</sup> (+) = Grad der Granulierungsdichte, die Prozentzahl gibt den Anteil der Zellen an.

### Diskussion

*Lichtmikroskopisch* gelten als Charakteristika endokrin aktiver Hypophysenadenome nach Müller (1969) eine reichliche Vascularisation, undeutliche Zellgrenzen, polymorphe Zellkerne mit Kernvacuolen und großen Nucleoli, reichlich cytoplasmatische Ribonucleinsäuren, prominente Golgifelder, viele Amitosen und seltene Mitosen. Eine ausgeprägte acidophile Granulierung gilt als Ausdruck einer Hormonspeicherung (Russfield und Reiner, 1957; Golden, 1959; Young *et al.*, 1965), während Zellen mit hoher Hormonsekretionsrate meistens eine geringe Granulierung erkennen lassen. Bei der Beurteilung unserer Fälle haben wir versucht, die einzelnen Merkmale quantitativ und qualitativ zu erfassen. Dabei fanden wir Aktivitätszeichen in unterschiedlicher Ausprägung. 6 Fälle zeigten nur geringe (in Tabelle 1: +), 4 Fälle deutlich ausgeprägte Aktivitätszeichen

Tabelle 2. Ultrastrukturelle Befunde zu Bewertung der Adenomaktivität

Fall	Rauhes endoplasmatisches Reticulum <sup>a</sup>	Golgi-Apparat <sup>b</sup>	Sekretgranula <sup>c</sup>		Lipidkomplexe <sup>c</sup>		Aktivitätsgrad
			reife	unreife	kleine	große	
1	stummelförmig	++	++	+	++	—	+
2	+++ teils wirbelig	+++ teils doppelt	+++	++	+	—	+++
3	+	+	+++	+	++	+	+
4	++ teils ringförmig	++	+	++	+	—	++
5	+	+	+	+	+	+	+
6	++ geschlängelt	+	+++	+	+++	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	++	++ teils doppelt	+	++	+	—	++
9	++	+	++	+	+	—	+
10	stummelförmig	+	+	+	—	—	+
11	++ dilatiert	+	+	+	++	+	+

Die Graduierung betrifft (vgl. Tabelle 1):

<sup>a</sup> die Menge, <sup>b</sup> die Größe, <sup>c</sup> die Anzahl.

(in Tabelle 1: ++) und 1 Fall eine besonders starke Aktivität (in Tabelle 1: +++ (Abb. 1a).

*Elektronenoptisch* werden vergrößerte Kerne mit prominenten Nucleoli als Zeichen einer hohen Aktivität angesehen (David, 1970). Für Proteohormonproduzierende Drüsen gelten außerdem die erhebliche Zunahme des rauhen endoplasmatischen Reticulum, der Golgfelder und der Zahl der Prosekretgranula (Birbeck und Mercer, 1961) als Merkmale hoher sekretorischer Aktivität. Eine Vermehrung der Mitochondrien, wie sie von Milne und Krstic (1966) am Rattenepithelkörperchen nach Epiphysektomie beschrieben wurde, kann ebenfalls als ein Aktivitätsindiz gewertet werden. Entsprechend fand Hymer *et al.* (1961) sowie Smith und Farquhar (1966) in den Prolactinzellen der Adenohypophyse von lactierenden Ratten große Golgfelder, viel rauhes endoplasmatisches Reticulum und reichlich Prosekretgranula, dagegen bei Suppression der Hormonausschleusung nach dem Abstillen viele autophagische Vacuolen und Lipidkomplexe. Der Nachweis einer großen Anzahl von Lipidkomplexen spricht also in der Regel gegen eine sekretorische Aktivität.

Nach diesen Gesichtspunkten haben wir die ultrastrukturelle Aktivität beurteilt und analog der histologischen Befunderhebung 3 Schweregrade unterschieden. In 8 Fällen fanden sich die Zeichen mäßiger Aktivität (in Tabelle 2: +),

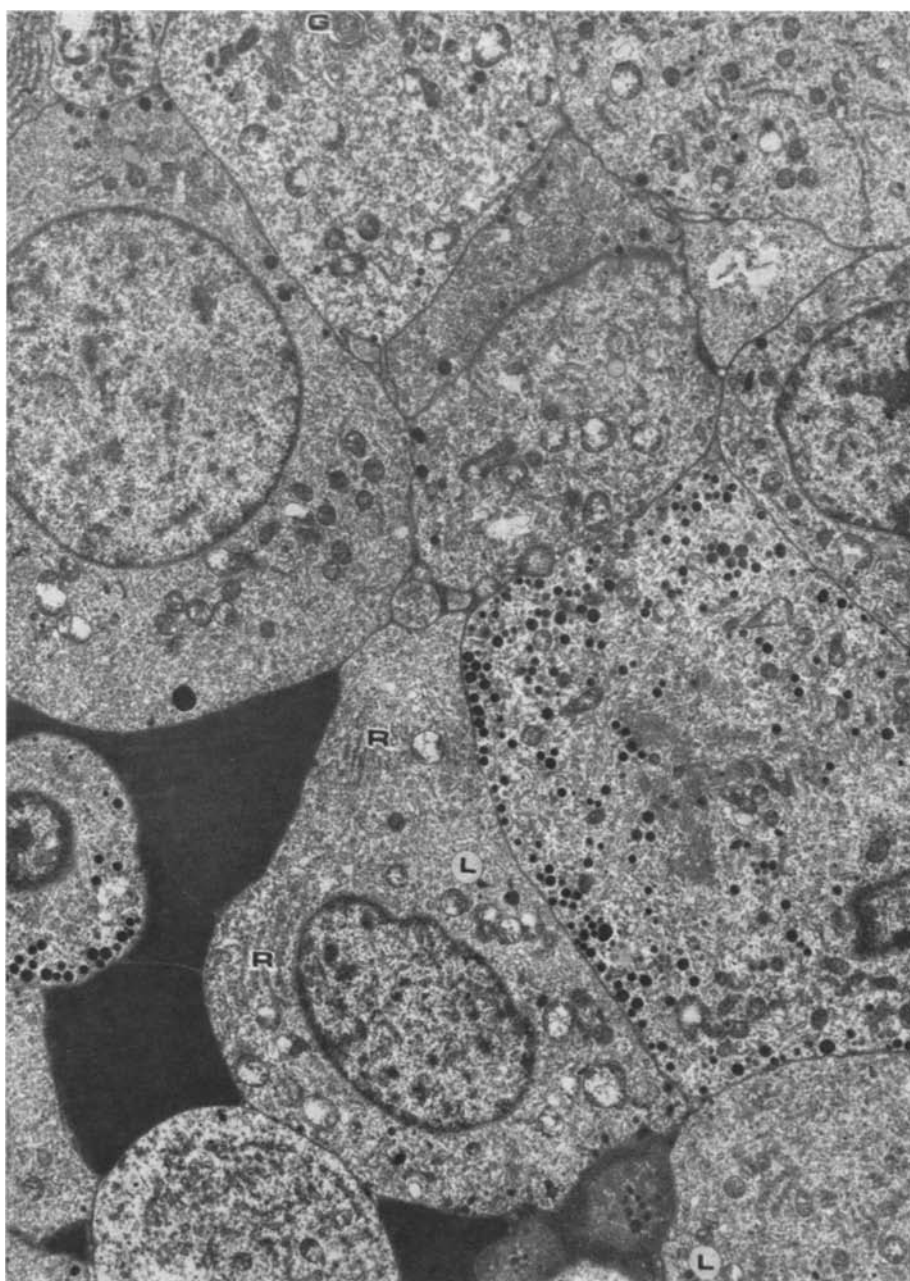


Abb. 2. (Fall 1.) Deutlich granulierte neben wenig granulierten Zellen, wenig rauhes endoplasmatisches Reticulum (*R*), vereinzelt Golgi-Felder (*G*), wenig kleine Lipidkörper (*L*). Erythrocyten im Interstitium. Vergr. 5700×

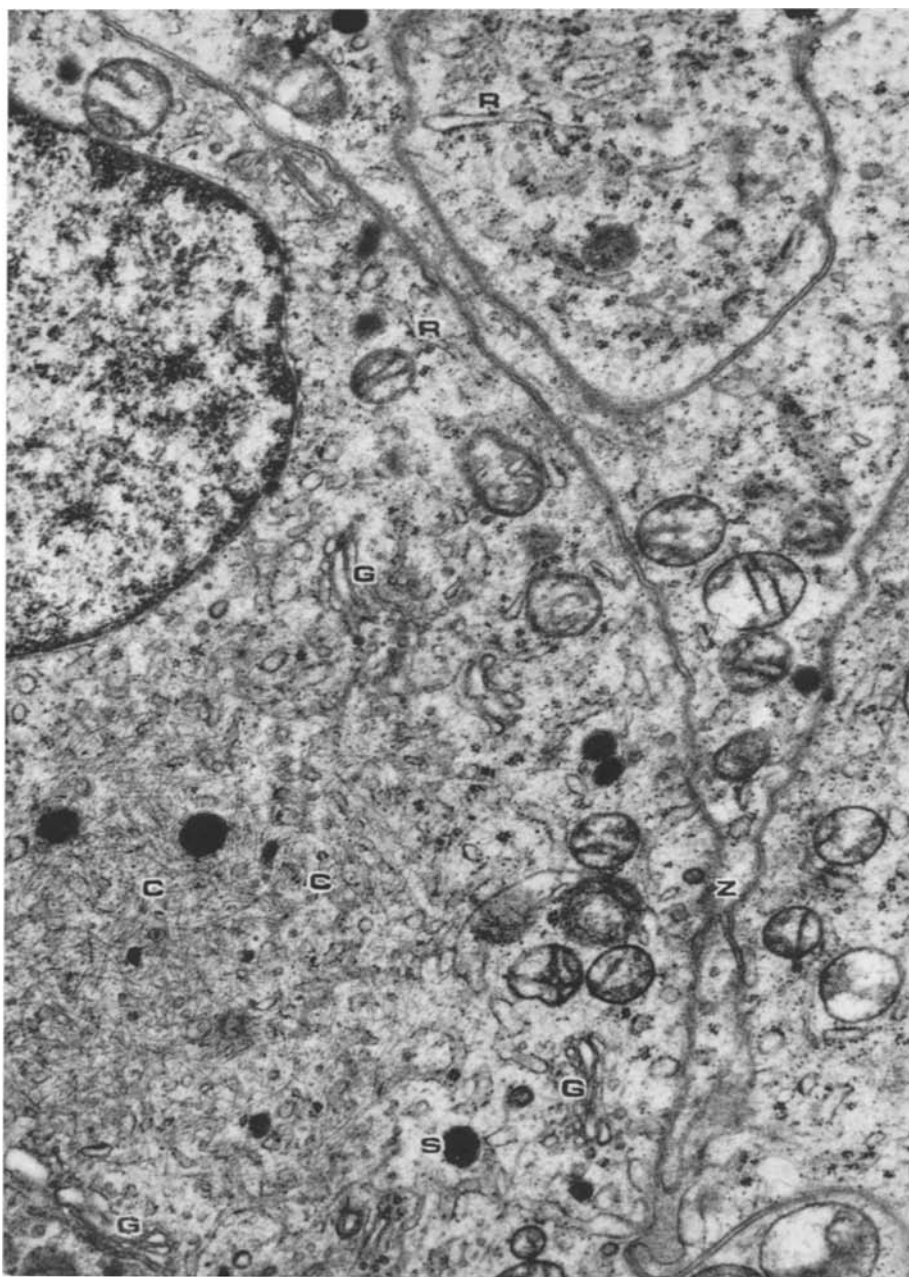


Abb. 3. (Fall 5.) Mehrfache Golgi-Felder (G), wenig und stummelförmiges rauhes endoplasmatisches Reticulum (R), einzelne reife Sekretgranula (S), haufenförmige Cytofilamente (C). Vergr. 20250×

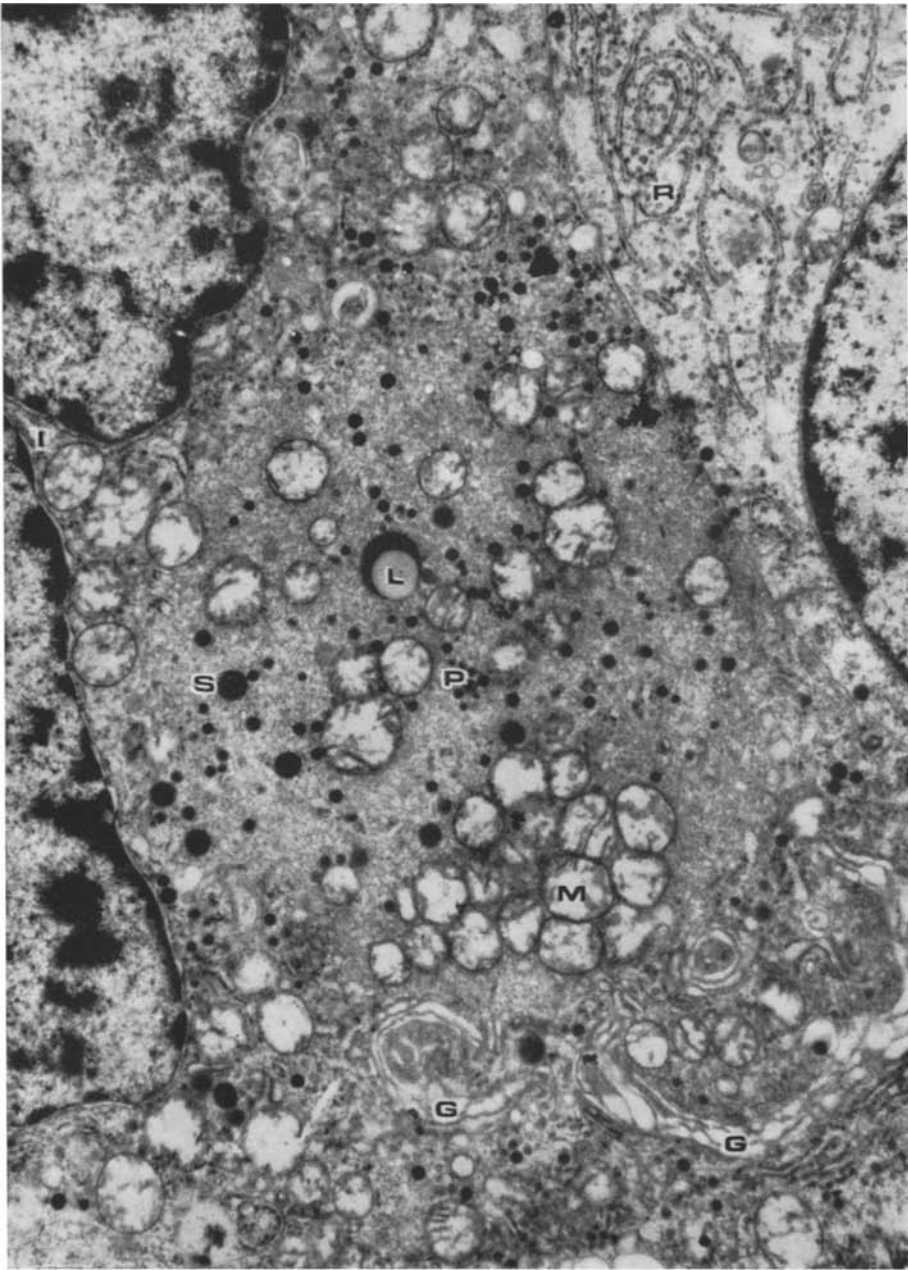


Abb. 4. (Fall 8.) Sehr weite und gedoppelte Golgi-Felder (*G*), haufenweise vermehrt Mitochondrien (*M*), herdförmig vermehrt raues endoplasmatisches Reticulum (*R*), viele unreife (*P*) und reife Sekretgranula (*S*), kleine Lipidkomplexe, heterochromatinreicher Zellkern mit Invagination (*I*). Vergr. 13200 $\times$



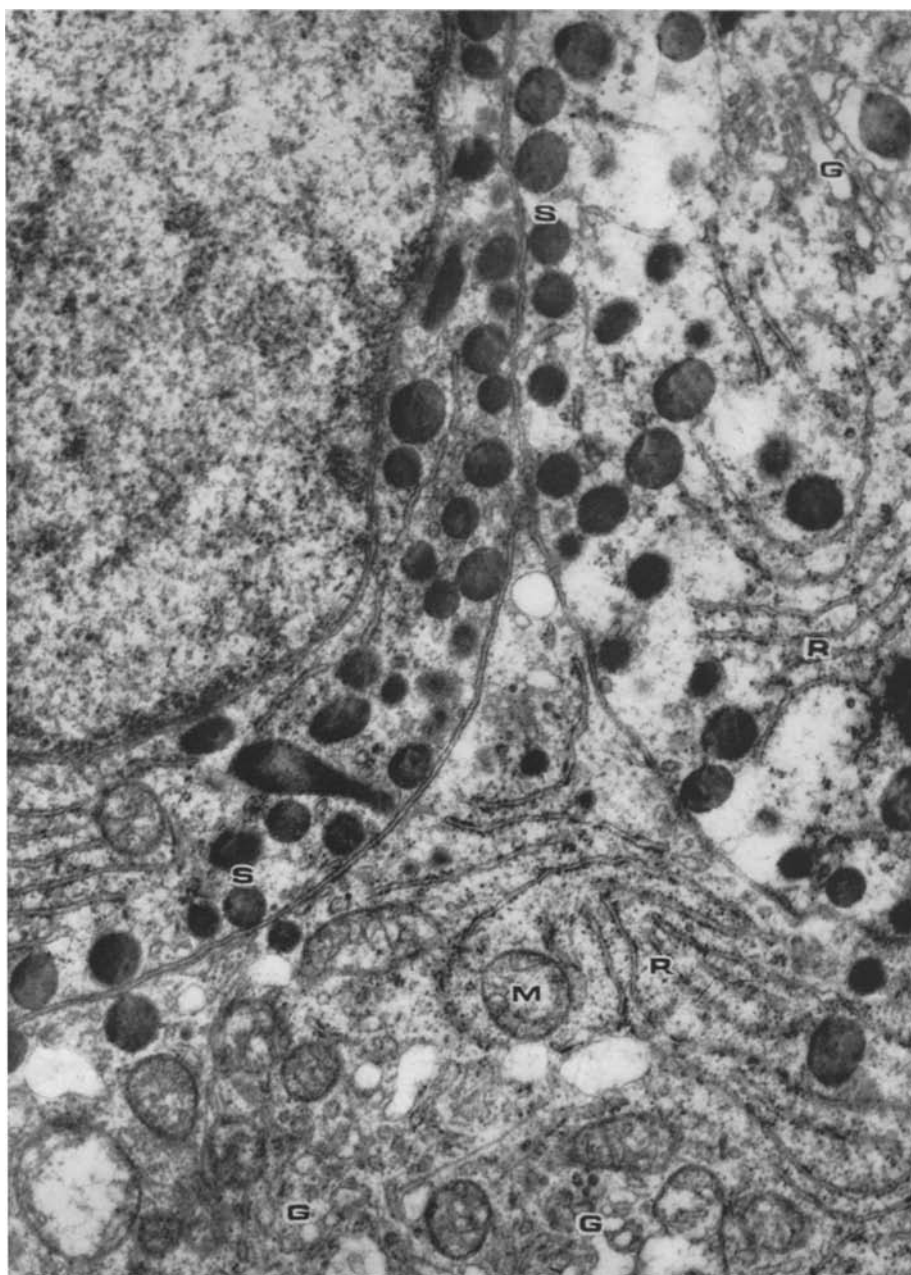


Abb. 5. (Fall 2.) Viel raues endoplasmatisches Reticulum (*R*), große Golgi-Felder (*G*), vermehrt Mitochondrien (*M*). Viele unreife und reife Sekretgranula (*S*). Vergr. 21100 $\times$

Tabelle 3. Vergleich zwischen den morphologischen Aktivitätsgraden und dem Plasma-STH-Spiegel

Fall	Aktivitätsgrad		Tumor- ausdehnung	Rezidiv	Plasma- STH-Spiegel (ng/ml)
	histo- logisch	ultra- strukturell			
1	+	+	intrasellär groß	—	—
2	+++	+++	intrasellär groß	—	> 160
3	+	+	intrasellär groß	—	> 40
4	++	++	intrasellär groß	—	> 120
5	+	+	intrasellär groß	—	15
6	+	+	intrasellär klein	—	40
7	++	+	intra- und suprasellär sehr groß	+	> 40
8	++	++	intra- und suprasellär sehr groß	+	> 80
9	+	+	intrasellär groß	—	> 40
10	++	+	intra- und suprasellär sehr groß	+	> 120
11	+	+	intrasellär groß	—	> 40

kenntlich an der geringen Entwicklung des rauhen endoplasmatischen Reticulum, der geringen Ausdehnung der Golgfelder und den zahlreichen reifen Sekretgranula mit ihren Abbauprodukten (Abb. 2 und 3). In 2 Fällen (in Tabelle 2: ++ ) waren die Aktivitätszeichen deutlich bis ausgeprägt erkennbar (Abb. 4). Ein Fall (in Tabelle 2: +++ ) wies auf eine sehr starke Aktivität hin (Abb. 5). Es fanden sich sehr viel rauhes endoplasmatisches Reticulum, große und gedoppelte Golgfelder, viele Mitochondrien und unreife Sekretgranula. Auch waren viele reife Granula, aber nur sehr wenige Lipidkomplexe vorhanden, so daß bei einer verstärkten Granulaausschleusungsrate eine sehr hohe Sekretion von STH vermutet werden kann.

*Der Vergleich zwischen den lichtmikroskopischen und den ultrastrukturellen Aktivitätsgraden* (Tabelle 3) erbringt generell eine Übereinstimmung. Lediglich in 2 Fällen (Fall 7, 10) sind die histologischen Aktivitätszeichen ausgeprägter als die ultrastrukturellen. Beides sind rezidierte Adenome, die histologisch eine Polymorphie der Zellkerne bei mittlerem Chromatingehalt und eine geringe acidophile Granulierung zeigten (Tabelle 1), also Hinweise für eine erhöhte sekretorische Aktivität boten. Aus der ultrastrukturellen Organellenausstattung (Tabelle 2) sind jedoch nur geringe Aktivitätszeichen ablesbar. Statt dessen fanden sich viele Nekrosen, Zellinvaginationen, Kerneinbuchtungen und Vacuolisierungen, so daß in Übereinstimmung mit den von Brucher *et al.* (1970) an einem chromophoben Adenom erhobenen Befunden eher eine erhöhte Wachstumsrate angenommen werden kann.

Die Gegenüberstellung der morphologisch ermittelten Aktivitätsgrade mit den praeeoperativen, nach Glucosebelastung bestimmten Plasma-STH-Werten (Normalwert: bis 2 ng/ml) erbringt in 9 von 10 Fällen eine Übereinstimmung. In 6 Fällen (Fall 3, 5, 6, 7, 9, 11) sind relativ wenig erhöhte STH-Werte mit einer nur gering gesteigerten Sekretionsaktivität der Adenome vergleichbar (Tabelle 3). In 3 Fällen (2, 4, 8) entsprechen die stark erhöhten STH-Werte völlig den hohen Aktivitäten der Tumoren, wobei im Fall 2 morphologisch und hormonell der höchste Schweregrad zu verzeichnen ist (Tabelle 3). Eine Diskrepanz ergibt sich im Fall 10, bei dem ein sehr hoher STH-Wert einer ultrastrukturell nur geringen Aktivität des Tumors gegenübersteht. Da der ausgedehnt intra- und suprasellär gewachsene Tumor (Tabelle 3) überdurchschnittlich groß war, könnte die Erklärung darin bestehen, daß durch die Summation sehr vieler wenig aktiver Adenomzellen eine hohe STH-Produktion resultiert.

### Literatur

- Adams, C. W. M., Swettenham, K. V.: The histochemical identification of two types of basophil cell in the normal human adenohypophysis. *J. Path. Bact.* **75**, 95—103 (1958).
- Birbeck, M. S. C., Mercer, E. H.: Cytology of cells which synthesize protein. *Nature (Lond.)* **189**, 558—560 (1961).
- Brucher, J. M., Soffer, D., Wechsler, W.: Feinstruktur eines polymorphen Hypophysenadenoms. *Path. europ.* **5**, 442—453 (1970).
- David, H.: Zellschädigung und Dysfunktion. In: *Protoplasmatologia*, Bd. X, 1: Zellschädigung und Dysfunktion, hrsg. von Alfert, M., Bauer, H., Harding, C. V., Sandritter, W., Sitte, P. Wien-New York: Springer 1970.
- Fukumitsu, T.: Electron microscopic study of human pituitary adenomas. *Arch. jap. Chir.* **33**, 329—349 (1964).
- Glick, S. M., Roth, J., Yalow, R. S., Berson, S. A.: Immunoassay of human growth hormone in plasma. *Nature (Lond.)* **199**, 784—787 (1963).
- Golden, A.: The distribution of cells in the human adenohypophysis. *Lab. Invest.* **8**, 925—938 (1959).
- Gusek, W.: Zur Ultrastruktur des eosinophilen Hypophysenadenoms. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **102**, 105—106 (1961).
- Gusek, W.: Vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen menschlicher Hypophysenadenome bei Akromegalie. *Endokrinologie* **42**, 257—283 (1962).
- Hymer, W. C., McShan, W. H., Christiansen, R. G.: Elektron microscopic studies of anterior pituitary glands from lactating and estrogen-treated rats. *Endocrinology* **69**, 81—90 (1961).
- Miline, R., Krstic, B.: Sur l'histophysiologie corrélative de la glande pinéale et des glandes parathyroïdes. *Z. Zellforsch.* **69**, 428—437 (1966).
- Müller, W.: Pathologie der Hypophysentumoren. In: *Oestrogene Hypophysentumoren*. 15. Sympos. Dtsch. Ges. Endokrin, hrsg. von Kracht, J. S. 206—222. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969.
- Pelletier, G., Einstein, A.: Classification and physiopathology of pituitary tumors. *Un. med. Can.* **100**, 1779—1783 (1971).
- Russfield, A. B., Reiner, L.: The hypophysis in human growth failure: report of three dwarfs. *Lab. Invest.* **6**, 334—345 (1957).
- Schelin, U.: Chromophobe and acidophil adenomas of the human pituitary gland. *Acta path. scand., Suppl.* **158** (1962).

- Smith, R. E., Farquhar, M. G.: Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary gland. *J. Cell Biol.* **31**, 319—347 (1966).
- Utiger, R. D., Parker, M. L., Daughaday, W. H.: Studies on human growth hormone. I. A radioimmunoassay for human growth hormone. *J. clin. Invest.* **41**, 254—261 (1962).
- Young, D. G., Bahn, R. C., Randall, R. V.: Pituitary tumors associated with acromegaly. *J. clin. Endocr.* **25**, 249—259 (1965).
- Zambrano, D., Amezua, L., Dickmann, G., Franke, E.: Ultrastructure of human pituitary adenomata. *Acta neurochir. (Wien)* **18**, 78—94 (1968).

Dr. med. Wolfgang Saeger  
Pathologisches Institut der Universität  
D-2000 Hamburg 20  
Martinistraße 52  
Bundesrepublik Deutschland