

Ultrastrukturelle Differenzierung der Phäochromocytome

J. Cervós-Navarro, J. M. Bayer und H. Käser

Institut für Neuropathologie der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. J. Cervós-Navarro), Chirurgische Klinik der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. A. Gütgemann) und Stoffwechsel-Abteilung der Schweizerischen Zentrale für klinische Tumorforschung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. H. Käser)

Eingegangen am 11. April 1973

Ultrastructural Differentiation of Pheochromocytoma

Summary. Six surgically removed pheochromocytomas were examined by electron microscopy.

Despite the variety of cell types, five of the tumors were classed as noradrenalin-adrenalin-secreting on the basis of overall structure. Only one of the six tumors, through clinical investigation, was classified as essentially noradrenalin-secreting. Some cells of this tumor displayed the characteristics of neuronal elements.

In all six tumors examined the main tumor cells contained a nearly constant number of osmophilic granula. In some cells of one of the noradrenalin-adrenalin-secreting tumors these granula were all about the same size and had a limited range of light and dark contrast. In the cells of the other tumors, however, the size and contrast of the granula varied. Because of this variation, it was impossible to differentiate between secreting and non-secreting cells or to classify them into synthesizing and storage cells. The difference between light and dark cells is due, not to the presence of osmophilic granula, but to differences in the density of the basic substance.

Zusammenfassung. 6 operativ entfernte Phäochromocytome werden elektronenmikroskopisch untersucht. 5 davon lassen sich trotz verschiedener Anteile unterschiedlicher Zelltypen in ihrem Aufbau als einheitliche Gruppe einordnen. Im 6. Tumor, dem einzigen, der praktisch nur Noradrenalin ausgeschieden hat, zeigt ein Teil der Tumorzellen Merkmale neuronaler Zellelemente. Die Haupttumorzellen aller 6 Fälle gemeinsam werden durch ihre innerhalb bestimmter Variationsbreiten konstanten Zahl phäochromer Granula gekennzeichnet. In einem Fall zeigten die phäochromen Granula in den einzelnen Zellen eine bestimmte Größe und einen bestimmten Kontrastreichtum. Die Haupttumorzellen in den übrigen Fällen zeigen alle möglichen Variationen der phäochromen Granula in ein- und demselben Zellelement. Die Vermischung der verschiedenen Typen phäochromer Granula macht eine Unterscheidung von Zellen nach ihrem Sekretionstyp unmöglich. Auch eine Unterscheidung zwischen speichern den Zellen konnte nicht festgestellt werden. Die auffallenden Unterschiede zwischen hellen und dunklen Zellen sind auf die verschiedene Dichte des Grundplasmas und nicht auf die phäochromen Granula zurückzuführen.

Ein Teil der Veröffentlichungen, die die Feinstruktur der Phäochromocytome behandeln, stellt die biochemischen Aspekte in den Vordergrund bzw. beschränkt sich auf wenig detaillierte morphologische Besonderheiten (Kleinschmidt u. Schümann, 1961; Luse, 1961; Page u. Jacobi, 1964; Rosenthal *et al.*, 1966). Die Mehrzahl der Arbeiten, bei denen eine eingehende Untersuchung der Feinstruktur von Phäochromocytomen durchgeführt wurde, beschäftigen sich an erster Stelle

mit dem Vergleich zwischen Tumor und normalem Nebennierenmark (Bässler u. Habighorst, 1964; Yokoyama, 1966; Benedeczky u. Lapis, 1968) oder zwischen Phäochromocytomen und Neuroblastomen (Misugi *et al.*, 1968; Greenberg *et al.*, 1969). Ansonsten handelt es sich mit Ausnahme von Yokoyama u. Takayasu (1969) und Brown *et al.*, (1971) um einige, meistens vereinzelte Beobachtungen, die keinen systematischen ultrastrukturellen Vergleich erlauben.

In der vorliegenden Arbeit wird an Hand eines größeren, klinisch, biochemisch und elektronenmikroskopisch eingehend bearbeiteten Materials eine solche Systematik versucht.

Patientengut und Methoden

Die endgültige Diagnose wurde aufgrund der erhöhten Ausscheidungswerte der Katecholamine und ihrer Abbauprodukte im Urin gestellt. Sie wurden in der Tabelle 1 zusammengetragen. Am Anfang der Tabelle sind die maximalen Grenzen der Normalwerte als Vergleich angegeben. Die Sammelproben wurden, mit Aus-

Tabelle 1. Ausgangswerte der Ausscheidung von Noradrenalin (NA), Adrenalin (A), Normetanephrin (NMN), Metanephrin (MN) und der Vanillinmandelsäure (VMS) im Urin

Fall Nr. Geschlecht Alter	Sammel- proben	NA frei (μ g/die)	A frei (μ g/die)	NMN total (μ g/die)	MN total (μ g/die)	VMS frei (mg/die)
1 ♂ 29	1	3391	0	7432	308	28,6
	2	2801	57	6928	187	29,2
	3	3125	Spur	7154	953	25,2
2 ♀ 35	1	—	—	8320	7996	16,5
	2	913	415	9747	8341	17,6
	3	—	—	—	—	19,2
3 ♀ 56	1	448	297	1768	1270	10,1
	2	380	312	2449	1586	9,0
4 ♂ 31	1	1114	Spur	19495	396	52,7
	2	1204	Spur	26007	240	52,0
	3	1267	Spur	—	—	51,4
	4	875	Spur	—	—	34,4
	5	1421	Spur	—	—	58,2
	6	1376	Spur	—	—	56,9
5 ♂ 36	1	86	75	—	—	—
	2	98	65	—	—	—
	3	—	—	—	—	54,8
	4	—	—	—	—	49,2
	5	192	42	—	—	—
	6	233	58	—	—	—
	7	—	—	—	—	66,1
	8	—	—	—	—	59,4
6 ♀ 9	1	1827	364	1578	51	15,1
	2	5038	0	2225	45	5,8
Normalwerte für Erwachsene		<50	<15	<300	<180	<6,5

nahme von Fall 5, in konsekutiv darauffolgenden Tagen entnommen. Die Fälle 4 und 5 wurden präoperativ medikamentös (a-Rezeptoren-Blocker Phenoxybenzamin) mit Erfolg (Abfall des Blutdruckes) vorbehandelt. Patientin K. N. (Fall 3) erwies sich gegenüber der alleinigen Zufuhr von Phenoxybenzamin als praktisch resistent. Die kombinierte Behandlung mit Phenoxybenzamin und dem Synthesehemmer a-Methyl-p-Tyrosin (a-MPT) bei gleichzeitiger Gabe von Propranolol war erfolgreich. Einige Tage nach der Operation wie auch bei späteren Kontrollen wurden bei allen 6 Patienten im Normbereich liegende Werte des VMS und — soweit untersucht — auch der Katecholamine festgestellt (Tabelle 1).

Im Verlauf der Operation war bei keinem der Patienten ein Hinweis auf das Vorliegen eines malignen Tumors gegeben, wenn auch das extraadrenale Phäochromocytom bei dem Patienten P. Sch. (Fall 5) relativ fest auf der Unterlage fixiert war und die untere Hohlvene umschiedet hatte (Abb. 2). Eine grobe Infiltration der Umgebung oder ein metastasierender Befall regionärer Lymphknoten war in keinem Fall nachweisbar.

Der größte Anteil des Tumormaterials wurde in 10% igem Formalin fixiert, nach Chromierung mit Eisenhaematoxilin gefärbt und z.T. in KJO₃ eingelegt. Die makroskopischen Befunde und die gestellten lichtmikroskopischen Diagnosen sind in der Tabelle 2 wiedergegeben¹.

Tabelle 2. Morphologische Befunde

Fall-Nr.	Lokalisation und makroskopischer Befund	Tumorgewicht u. -maße	Histologische und histochemische Befunde
1	Lateral und dorsal der li. Nebenniere, gut umschriebener, knotiger Tumor	34 g 3,7 × 4,0 × 3,3 cm	Extraadrenales Phäochromocytom. Kein Anhalt für Malignität. Überwiegend N-Zellen
2	Gut umschriebener, am Rande knotiger Tumor der re. Nebenniere	110 g 7,1 × 5,4 × 5,5 cm	Intraadrenales Phäochromocytom. Kein Anhalt für Malignität. A- und N-Zellen
3	Gut umschriebener, kugelförmiger Tumor am unteren Ende der li. Nebenniere	Gesamtpräparat 6,2 g 3,3 × 3,0 cm	Intraadrenales Phäochromocytom. Kein Anhalt für Malignität. A- und N-Zellen
4	Gut umschriebener, großer kugelförmiger Tumor der li. Nebenniere, der unter der Kapsel Reste atrophischen Rindengewebes erkennen läßt	198,8 g 11,7 × 8,6 × 9,3 cm	Intraadrenales Phäochromocytom. Kein Anhalt für Malignität. Überwiegend N-Zellen
5	Medial und dorsal der re. Nebenniere großer, knolliger, derber Tumor, der die V. cava umschiedet	325 g 12,4 × 10,3 × 8,0 cm	Extraadrenales Phäochromocytom. Kein Anhalt für Malignität. Überwiegend N-Zellen
6	Von der re. Nebenniere ausgehender größerer, ovoidförmiger, gut umschriebener Tumor: Medial- u. ventralwärts hinter der V. cava 2 weitere kleinere Tumoren ähnlicher Beschaffenheit	Gesamtpräparat 42,5 g 1. 5,7 × 3,2 cm 2. 2,3 × 1,4 cm 3. 1,7 × 1,4 cm	Multiple intra- und extraadrenale Phäochromocytome. Kein sicherer Anhalt für Malignität

1 Die histologische Untersuchung der Tumorpräparate sowie die funktionelle Zelldifferenzierung in den Fällen 1 und 6 wurden von Herrn Prof. Dr. J. Kracht (Dir. des Pathologischen Instituts der Universität Gießen) durchgeführt.

In allen Tumoren fanden sich in wechselndem Umfang mehr oder weniger stark ausgeprägte Entdifferenzierungen, die jedoch aufgrund klinischer Erfahrungen nicht als Zeichen der Malignität aufgefaßt werden dürfen.

Unmittelbar nach der operativen Entfernung des Tumors wurden kleine Stückchen desselben in einer 5%igen Glutaraldehyd-Lösung mit 0,1 molarem Phosphatpuffer während 4 Std fixiert. Anschließend mehrstündige Wässerung in einer 0,2-molaren Natriumhydrogenphosphat-Saccharose-Lösung und 1-stündiger Nachfixierung mit 1%igem OsO₄. Die Einbettung erfolgte in Epon.

Als Vergleichsmaterial wurde das elektronenmikroskopisch untersuchte Nebennierenmark von zwei Patienten genommen, denen wegen eines Tumors bzw. einer Hyperplasie der Nebennierenrinde eine Nebenniere exstirpiert wurde.

Elektronenmikroskopische Befunde

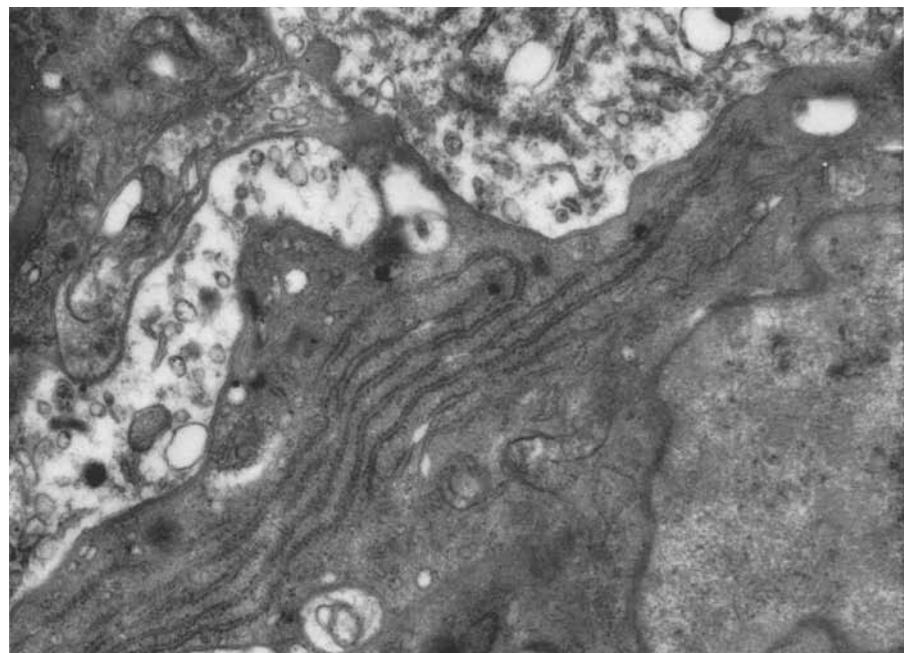
Die untersuchten Phäochromocytome kennzeichnen sich einmal durch den Anteil verschiedener Zelltypen im Aufbau jedes einzelnen Tumoren und zum anderen durch die Unterschiede in bestimmten Zellorganellen. Trotz dieser individualisierenden Merkmale lassen sich die Tumoren 1—5 als eine einheitliche Gruppe gegenüber dem Fall 6 abgrenzen.

Fälle 1—5

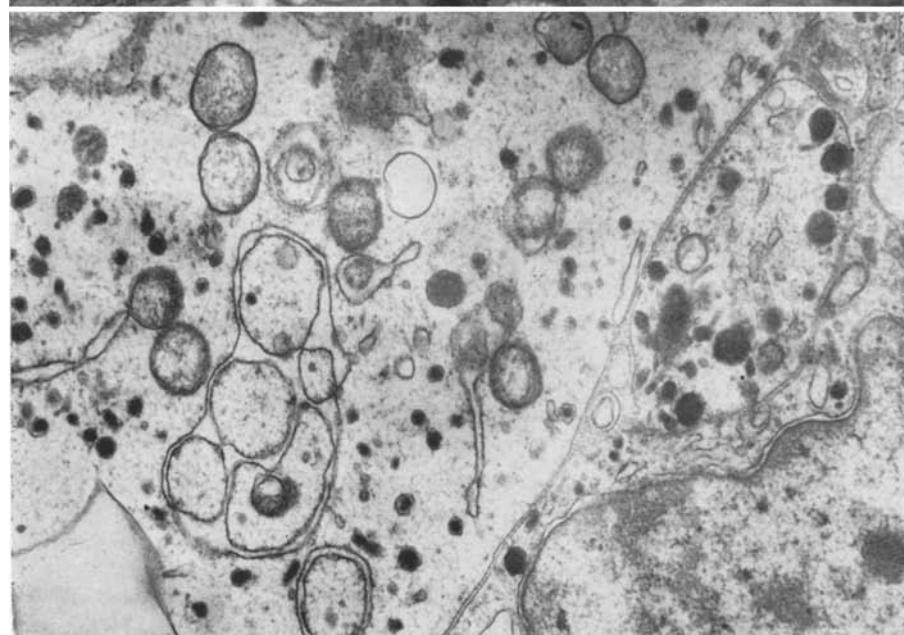
Auf den Übersichtsaufnahmen stellen sich helle und dunkle Zellen dar. Die Adielektronie der letzteren wird vor allem durch eine dichte Besetzung der feingranulären Substanz im Cytoplasma hervorgerufen. Sie kommen in den Fällen 3 und 4 selten vor, machen jedoch in den übrigen Fällen 10—20% der Zellpopulation aus. In den Fällen 1 und 2 ist von den üblichen dunklen Zellen ein Zelltyp abzugrenzen mit einem größeren Kernkörperchen, starker Entwicklung und paralleler Anordnung des granulären endoplasmatischen Reticulums und ohne phäochrome Granula (Abb. 1a und 5).

Die *Kerne* der dunklen Zellen zeigen oft tiefe Einbuchtungen der Kernmembran, während die hellen Zellen fast immer rundlich-elliptische Profile zeigen. In den Fällen 1, 2, 4 und 5 waren unter den hellen Zellen großleibige Elemente mit gelapptem Kern. In Fall 1 war eine mehrkernige Zelle zu erkennen.

Die bei der Mehrzahl der Zellen reichlich vorkommenden *phäochromen Granula* zeigen Durchmesser von 100—300 nm und rundliche, längliche oder kolbenartige Formen (Abb. 2a). Durch Vorwölbung ihrer Wände entstehen bizarre Granulaprofile (Abb. 2b). Die phäochromen Granula sind unterschiedlich adielektronisch und hellere Granula kommen gelegentlich vor. Letztere machen bei einigen dunklen Zellen die gesamte Menge der phäochromen Granula aus (Abb. 7). Darüber hinaus findet man große rundliche Gebilde von 500 und mehr nm Durchmesser, deren Inhalt und Form genau die gleiche wie der der phäochromen Granula ist. Die Verteilung der verschiedenen Granulatypen in den Tumorzellen ist unregelmäßig, so daß die einzelnen Zellen Granula unterschiedlicher Form, Größe und Adielektronie beinhalten. Nur in Fall 2 fallen verschiedene Zelltypen auf, die durch Unterschiede in der Größe (von 150—400 nm), Form (rund oder länglich), Zahl und Adielektronie ihrer phäochromen Granula hervorgerufen werden. In den verschiedenen Zellen dieses Tumors überwiegt jeweils eine bestimmte Form der Granula (Abb. 4a). Bezüglich der Adielektronie können alle



a



b

Abb. 1 a. Dunkler Zelltyp mit starker Entwicklung des granulären endoplasmatischen Retikulum, ohne phäochrome (chromaffine) Granula. $10500 \times$

Abb. 1 b. Organellenarmes Cytoplasma einer großen Zelle mit feinfädiger Grundstruktur und z.T. doppelkonturierten, dichten Granula verschiedener Größe. $15000 \times$

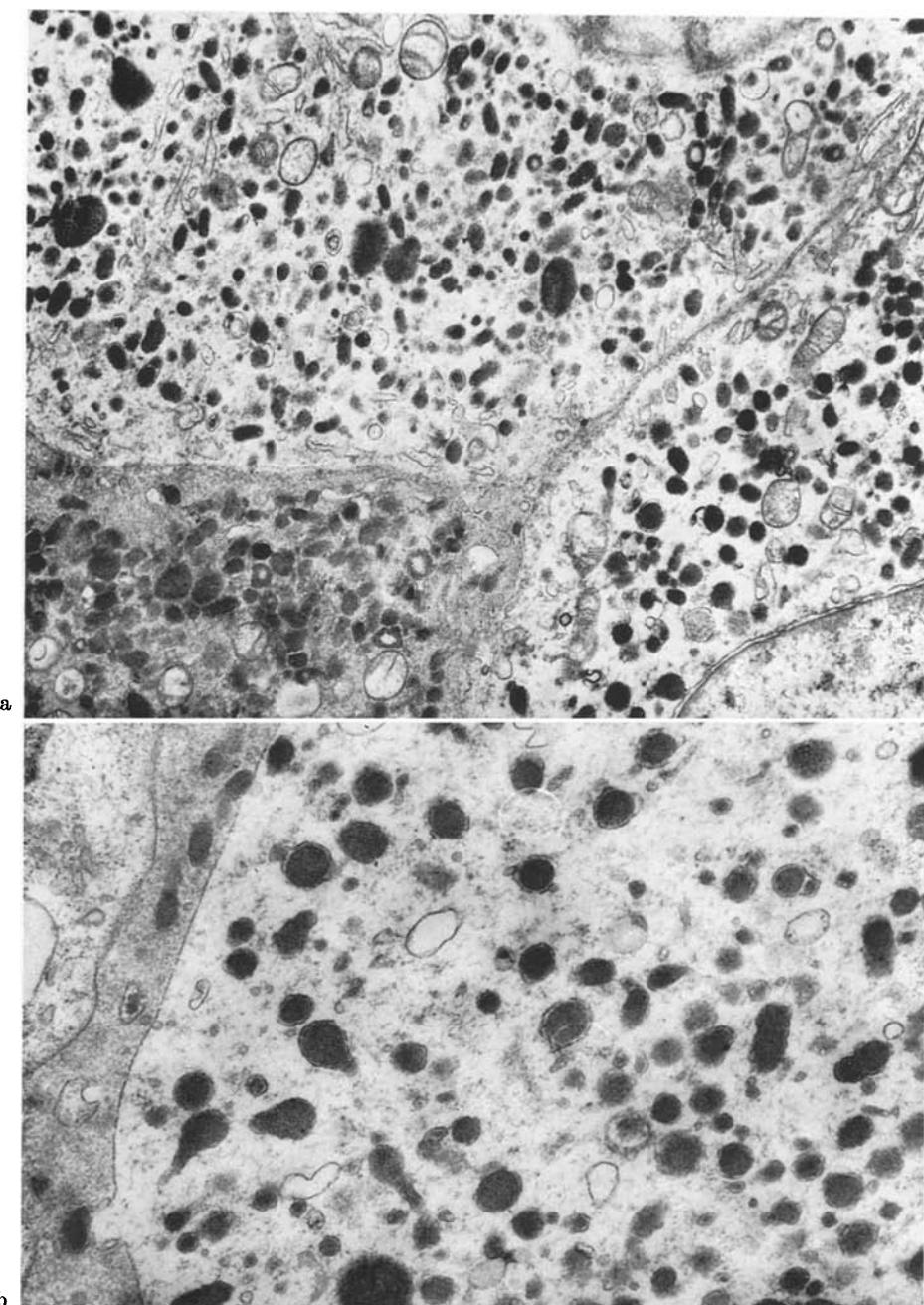


Abb. 2. a Unterschiede der Dichte und der Größe der Granula in den hellen bzw. dunklen Zellen. Bei der dunklen Zelle Abnahme der Adielektronie der phäochromen Granula. 12000 \times . b In Größe und Form variierende Granula. Zum Teil Neubildung von Granula durch Abschnürung von Tochtergranula. Pinocytotische Bläschen und Exocytose einer Plasmamembran. 25000 \times

Granulaformen sowohl einen heller granulierten als auch einen dunklen homogenen Inhalt zeigen.

Die *Mitochondrien* aller Zelltypen haben im Schnitt ein rundes Profil und ihre *Cristae* sind spärlich. In Fall 5 kommen sie innerhalb einiger Zellen gehäuft vor.

Das *endoplasmatische Reticulum* ist häufig agranular, vor allem in hellen, mitochondrienreichen Zellen. Das granuläre e.R. zeigt mit Ausnahme der o.g. dunklen Zellen eine unregelmäßige Verteilung. Im Fall 1 war gelegentlich eine knäuelartige Anordnung von membranbegrenzten Räumen mit dazwischenliegenden phäochromen Granula auszumachen (Abb. 3). Die Membranen in der Peripherie dieser Gebilde zeigen einen granulären Besatz.

Die *Golgi-Zonen* sind in Zellen mit weniger phäochromen Granula breit angelegt und zeigen zahlreiche Bläschen. Innerhalb der Golgi-Zone erkennt man häufig phäochrome Granula, die meistens eine weniger dichte Matrix zeigen. In Zellen reichhaltiger phäochromer Granula sind die Golgi-Zonen spärlich vorhanden. In der Nähe der Golgi-Zonen befinden sich häufig Centriolen und Diplosomen.

Bis auf Fall 1, wo sie gehäuft vorkommen, sind *Lysosomen* nur vereinzelt anzutreffen. Cytofilamente kommen in der Mehrzahl der Zellen vor. In Fall 2 waren auch vereinzelte Mitrotubuli vorhanden. Vereinzelte *multivesiculäre Körper* waren in allen Fällen, bis auf Fall 2, vorhanden. In Fall 4 waren sie reichlich.

In Fall 2 fanden sich Zellen mit *Aufhellungen* breiter Areale des Cytoplasmas mit oder ohne membranöser Abgrenzung (Abb. 4b). In einigen Zellen des Falles 4 kommen sackförmige *Vacuolen*, die im Schnitt meistens ein leicht gefältetes Profil zeigen und einen Längsdurchmesser bis $2\text{ }\mu$ erreichen können (Abb. 6), vor. Sie sind zum Unterschied gegenüber den erwähnten Aufhellungen von einer homogenen Substanz mit feingranulärer Struktur gefüllt und werden gegenüber dem Cytoplasma durch eine einfache Membran abgegrenzt.

Glykogengranula kommen vereinzelt in der Mehrzahl der Zellen der Fälle 3 und 4 vor. In Fall 5 treten sie auch in dichten Ansammlungen auf (Abb. 7).

An einigen Stellen, vor allem in der Nähe der prävasculären Räume, erkennt man in den *Plasmamembranen* der Tumorzellen sowohl pinocytotische Bläschen als auch Exozytose von phäochromen Granula (Abb. 2b). Zwischen den Plasmamembranen der Tumorzellen finden sich in Fall zu Fall abwechselnder Zahl kleine *Desmosomen*.

Die interzellulären Spalten zeigen häufig Erweiterungen mit strukturlosem, adielektronischem Material. Es stellt das ultrastrukturelle Substrat des mit Imprägnationsmethoden dargestellten *Reticulin* (Matakas *et al.*, 1971) dar. Neben den *Capillaren* mit feiner Endothelwand und Endothelporen kommen auch einige Gefäße mit breiteren Endothelzellen und starker Pinocytose vor. Das perivasculäre Bindegewebe ist spärlich entwickelt.

Fall 6. Ein Teil sowohl der dunklen als auch der hellen Zellen bildet *cytoplasmatische Fortsätze*, die sich langsam oder unmittelbar nach ihrem Abgang verzüngen (Abb. 8). Sie beinhalten die gleichen Organellen und Strukturen wie das übrige Cytoplasma. Die Plasmamembranen benachbarter Zellen liegen meistens dicht aneinander und bilden spärliche *Desmosomen*. Sie kommen meistens in bestimmten Arealen gehäuft vor.

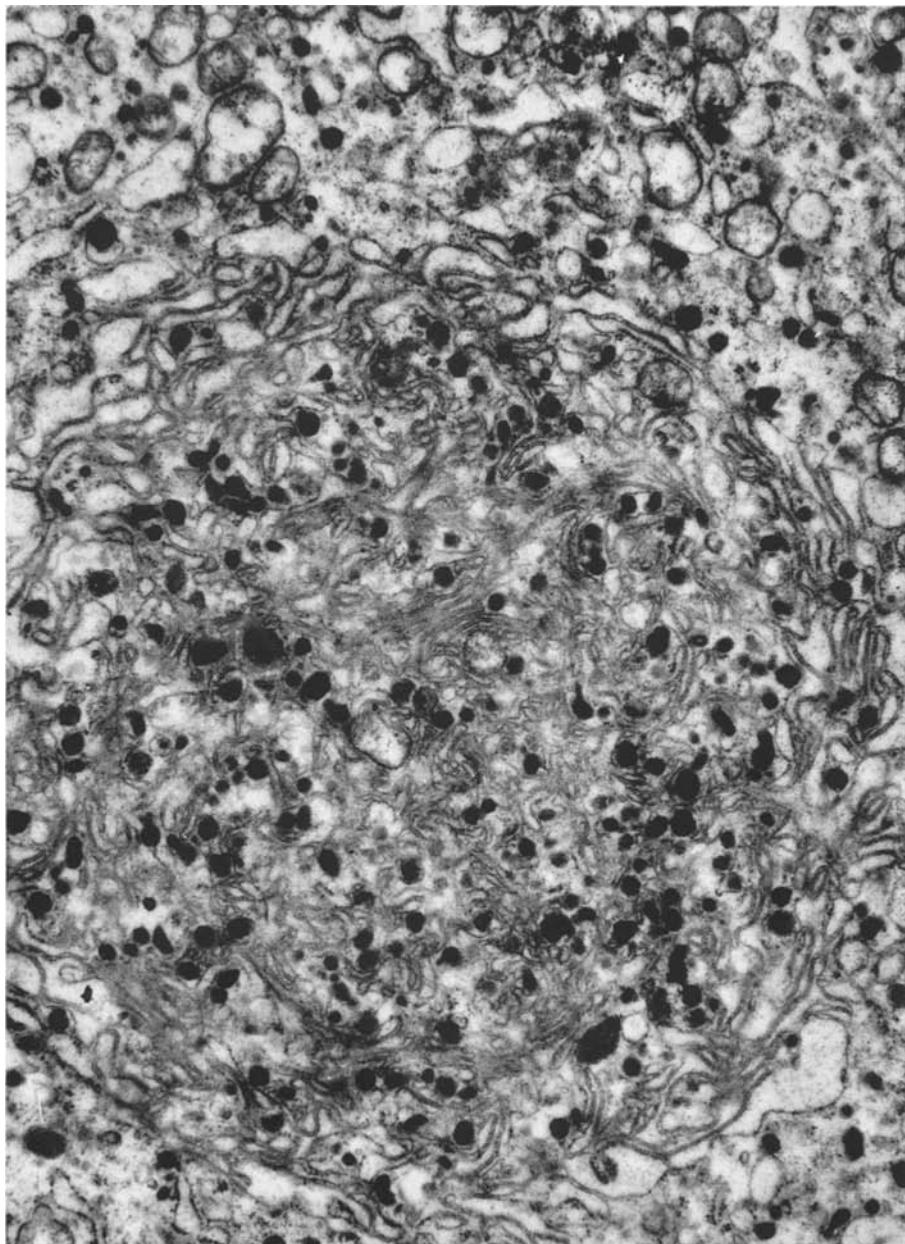


Abb. 3. Knäuelartige Anordnung von membranbegrenzten Räumen, zwischen denen phäochrome Granula liegen. Die Membranen in der Peripherie zeigen einen granulären Besatz.
20000 \times

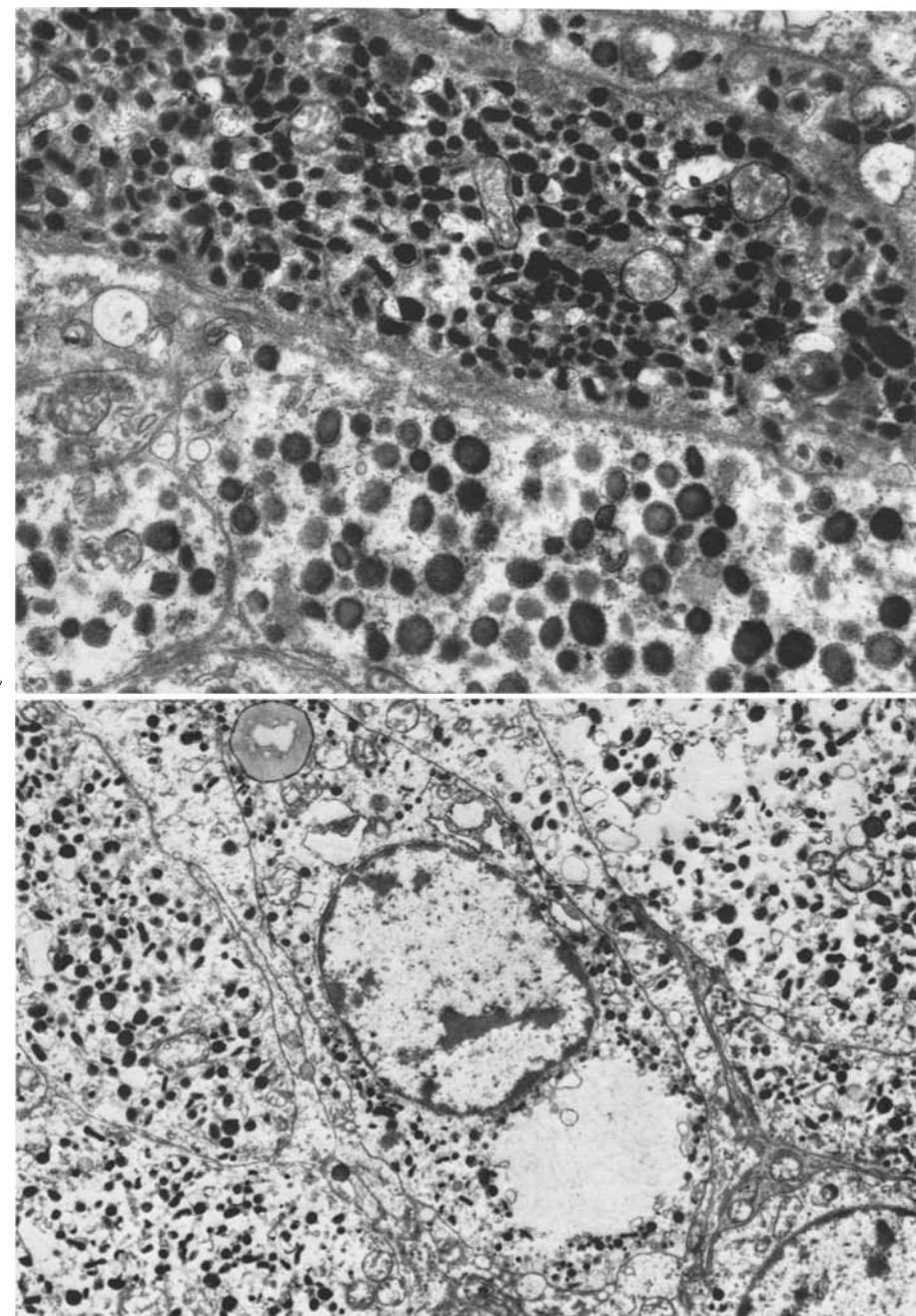


Abb. 4. a Zellanschnitte mit unterschiedlicher Adielektrone des Cytoplasma. Granula innerhalb der einzelnen Zellen von konstanter Form und Größe. $15000 \times$. b Vacuolenartige Aufhellung des Cytoplasma einer hellen Zelle ohne membranöse Abgrenzung. $6500 \times$

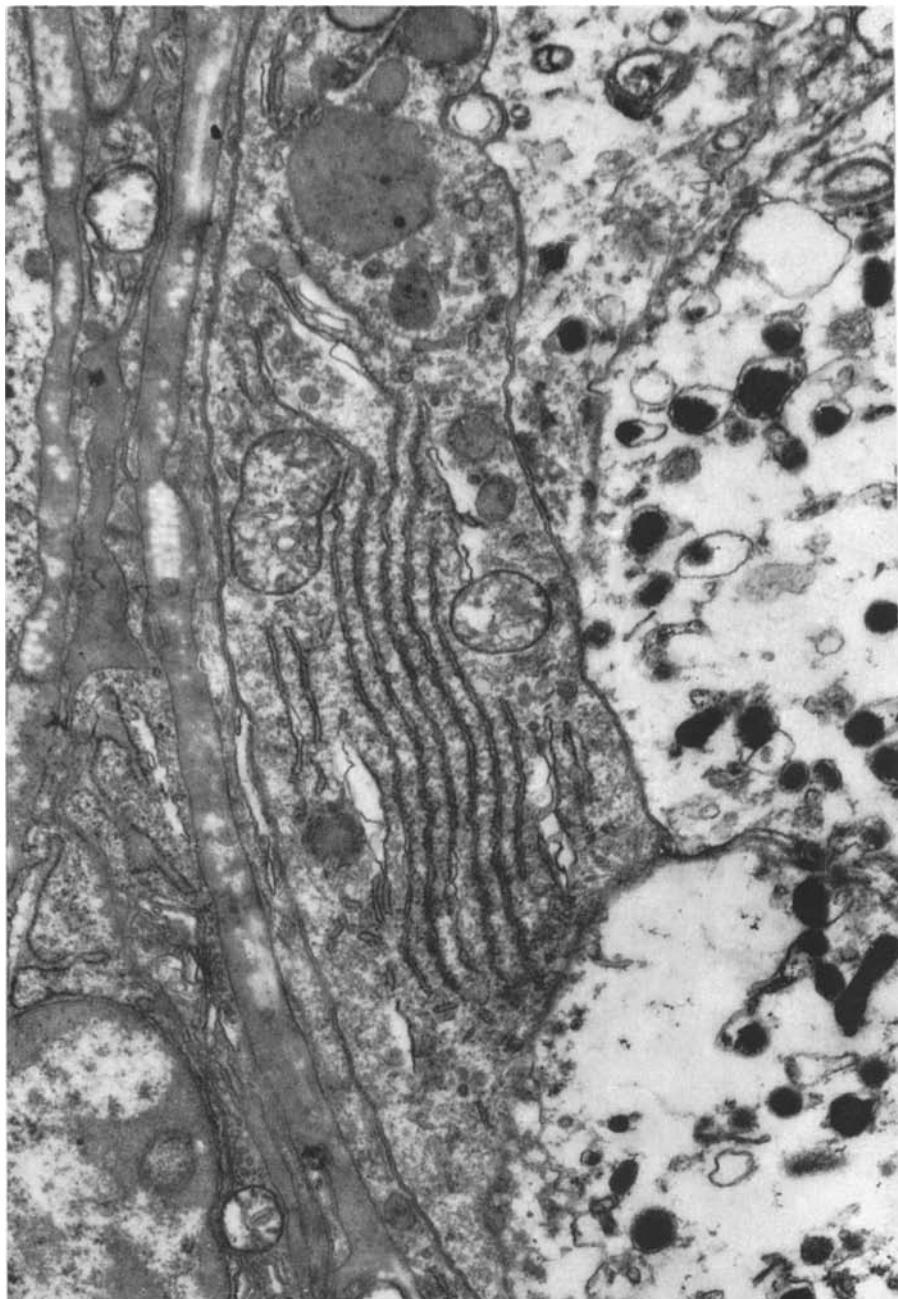


Abb. 5. Rechts Anschnitte heller Zellen mit spärlichen phäochromen (chromaffinen) Granula. In der Mitte dunklere Zelle mit stark entwickeltem granulärem endoplasmatischem Reticulum. Links Capillare mit kollabiertem Lumen und dünnwandigem Endothel. $25000\times$

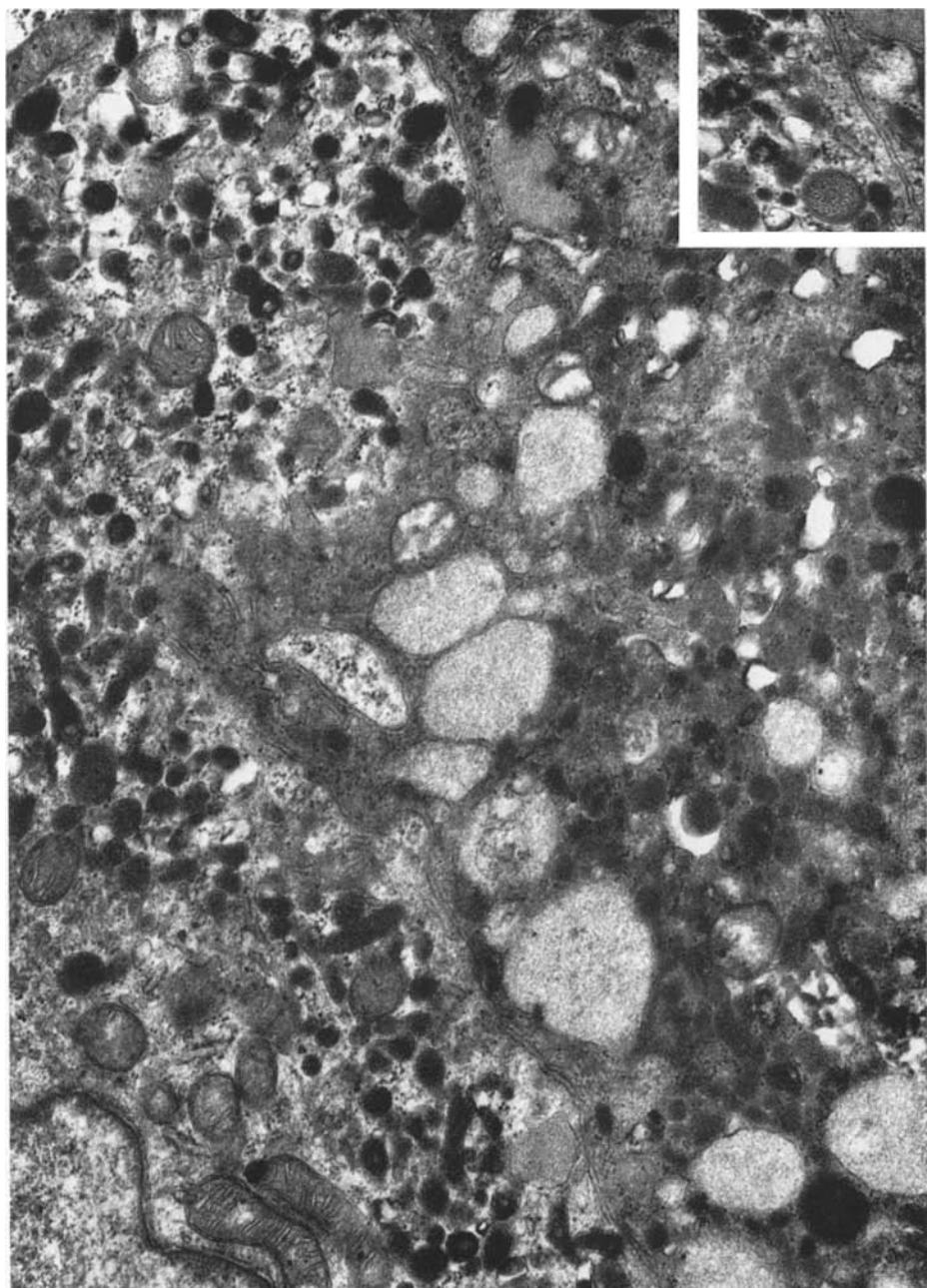


Abb. 6. Sackförmige Vacuolen einer dunklen Zelle mit feingranulärem Inhalt. — Ausschnitt
Granulum mit homogener Peripherie und granulärem Inhalt. $30000 \times$

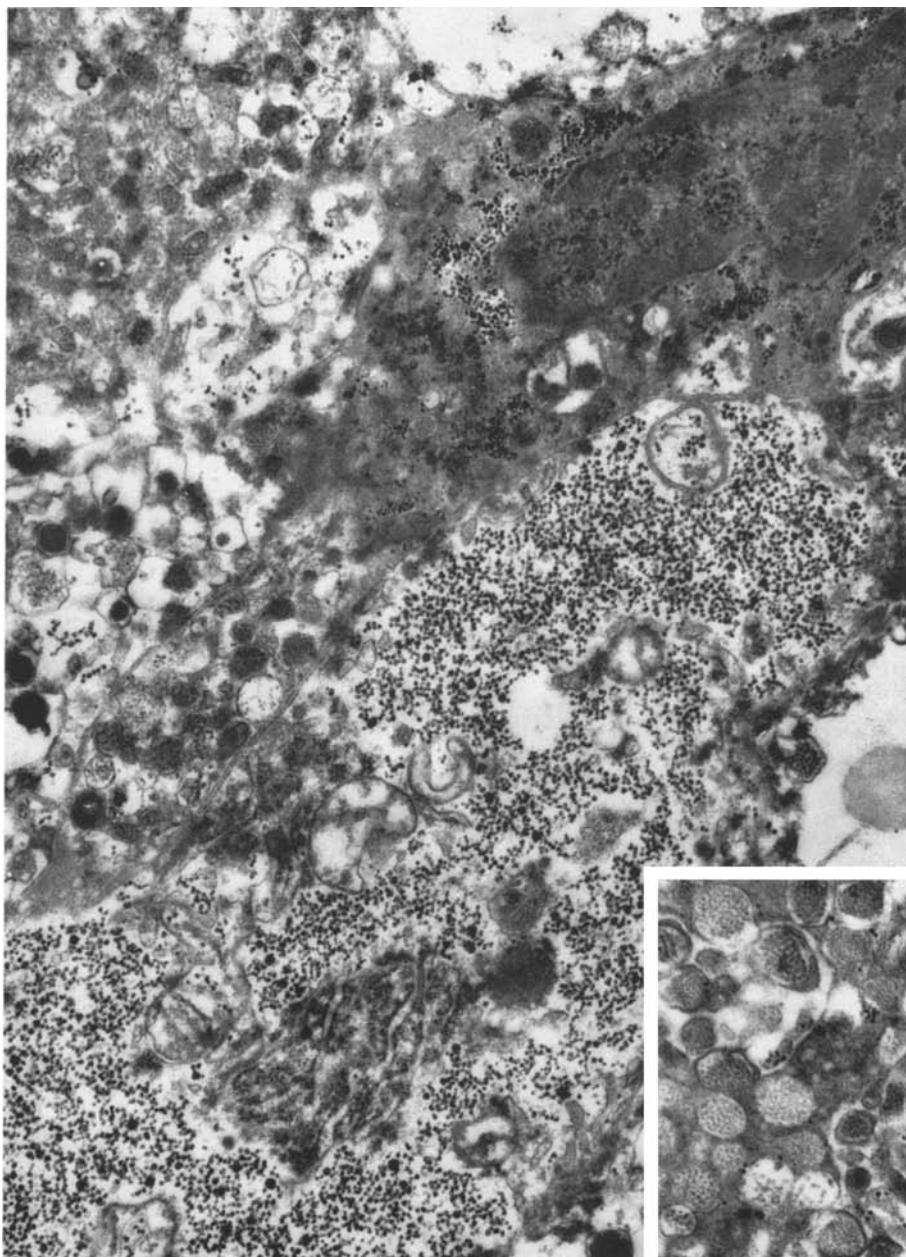


Abb. 7. Lokale Akkumulation von *Glykogengranula* in einer dunklen und einer hellen Zelle bei Fehlen von phäochromen Granula. — Ausschnitt: Die dunklen Zellen beinhalten nur helle Granula mit subgranulärer Struktur. $35\,000\times$

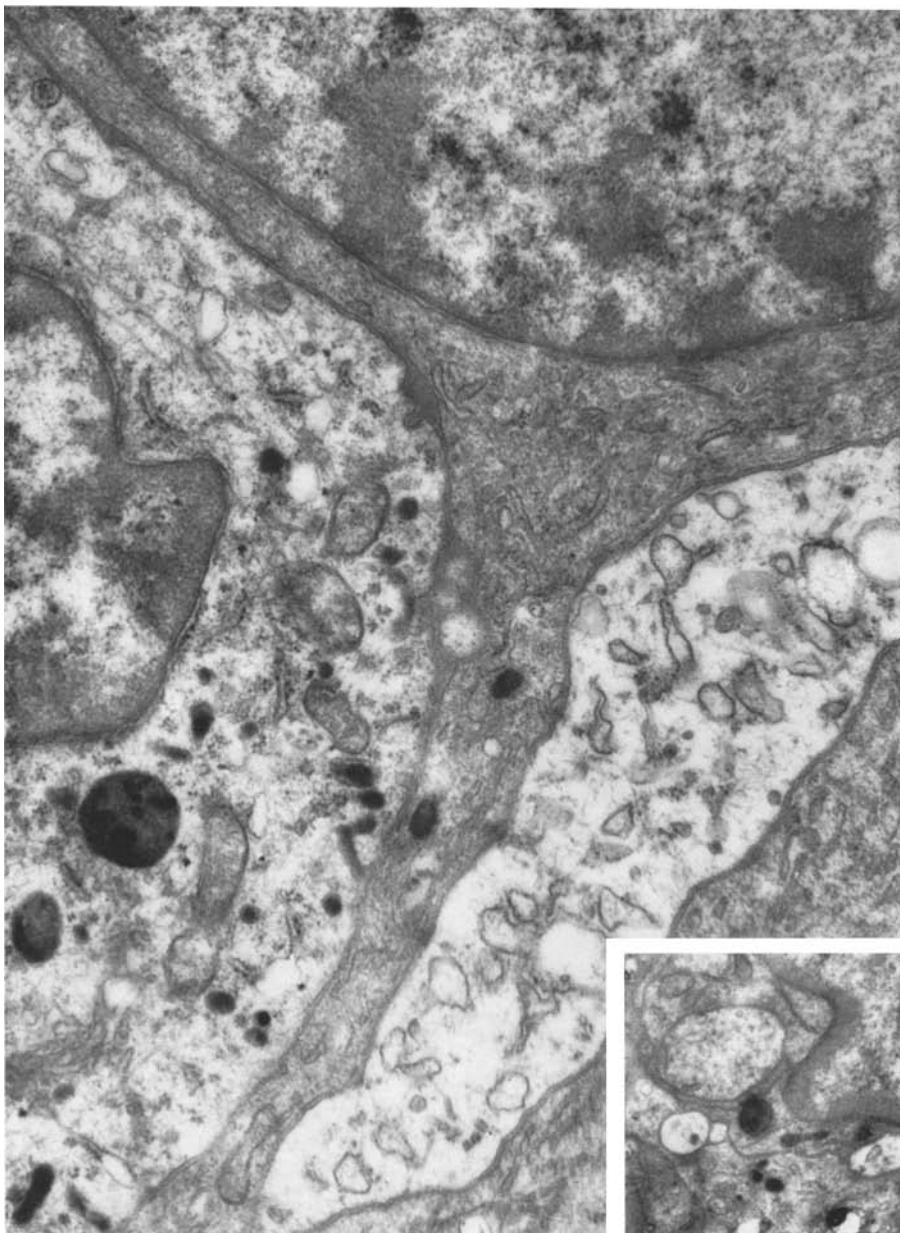


Abb. 8. Anschnitte von Zellen mit unterschiedlicher Entwicklung des endoplasmatischen Reticulum; Mikrotubuli im Cytoplasma der linken Zelle. Die obere Zelle bildet einen Fortsatz, der sich unmittelbar nach dem Abgang verjüngt. $\times 20000$. — Ausschnitt: Axone verschiedener Kaliber innerhalb einer Schwannschen Zelle. $15000 \times$

In ihrer Umgebung finden sich Querschnitte von *Nervenfasern* mit unterschiedlichen Durchmessern, die gelegentlich von Schwannschen Zellen mit entsprechenden Mesaxonen umgeben werden (Abb. 8). In einigen Zellen erkennt man *Vacuolen* mit einem Durchmesser bis $6\text{ }\mu$ und einem strukturlosen schwachen adielektronischen Inhalt. Sie beinhalten spärliche phäochrome Granula, aber zahlreiche Bläschen von etwa 50 nm Durchmesser mit osmophilem Inhalt. Das *Kernprofil* ist meistens leicht gefältelt. Das Kernkörperchen ist häufiger getroffen und ausgedehnter als in allen anderen Tumoren. Die *Mitochondrien* sind im ganzen Cytoplasma verteilt und beinhalten in der Regel wenige, unregelmäßig angeordnete Cristae. Das *endoplasmatische Reticulum*, sowohl granuläres als auch agranuläres, ist stark entwickelt. Freie Ribosomen und Polysomen sind häufig vorhanden. Die *Golgi-Zonen* finden sich in kernnahen Gebieten. Das Cytoplasma ist mit *Mikrotubuli* durchsetzt.

Den übrigen Tumorzellen entsprechen die bei den anderen Phäochromocytomen beschriebenen Haupttumorzellen. Ihre phäochromen Granula zeigen einen ziemlich regelmäßigen Durchmesser von etwa 200 nm, rundliche Profile und sind stark osmophil. Die perivasculären Räume zeigen eine starke Wucherung der kollagenen Fasern. Dazwischen liegen gelegentlich *Plasmazellen* mit stark entwickeltem endoplasmatischem Reticulum. Die Gefäße zeigen ein unregelmäßiges, abwechselnd dickes oder dünnes Endothel mit zahlreichen Endothelporen.

Besprechung

Haupttumorzellen

Die hellen und dunklen Zellen mit innerhalb einer bestimmten Variationsbreite konstanter Zahl phäochromer Granula stellen in den Fällen 1—5 die Mehrzahl und in Fall 6 einen Teil der Tumorzellen dar. Alle Autoren, die prinzipiell im Nebennierenmark verschiedener Species den Unterschied zwischen A- und N-Zellen postulieren, führen ihn auf Unterschiede in ihren phäochromen Granula zurück (Wassermann u. Tramezzani, 1963; Coupland, Pyper u. Hopwood, 1964; Wood u. Barrnett, 1964; Coupland, 1965a; Elfvin, 1965a; Benedeczky *et al.*, 1966; Coupland u. Hopwood, 1966; Moppert, 1966a). An Hand unseres Materials ist das gelegentliche Vorkommen eines hellen Hofes zwischen phäochromem Inhalt und umschließender Membran eines Granuloms als Artefakt und nicht als unterscheidendes Merkmal der Granulaart anzusehen. In zwei der Tumoren und in einem menschlichen, nicht tumoralen Nebennierenmark, das bei der operativen Entnahme einer Hyperplasie der Nebennierenrinde gewonnen wurde, waren solche Höfe nie zu erkennen. In den übrigen Phäochromocytomen waren sie selten vorhanden und nur angehäuft in Zellen, die eine Schwellung der Mitochondrien und/oder Cisternen des e.R. zeigten.

Unterschiede in Gestalt, Größe und Kontrast der phäochromen Granula waren in allen Tumoren vorhanden. Sie kamen jedoch in bestimmten Zellen nicht gleichmäßig, sondern eher in ein und derselben Zelle durcheinander vor. Als einziger ließ Fall 2 einen deutlichen Unterschied zwischen einzelnen Zellen in Form und Dichte der phäochromen Granula erkennen. Allerdings lässt die abwechselnde Adielektronie der verschiedenen Formen schwer eine mit der von Coupland, Pyper und Hopwood (1964) übereinstimmende Typisierung der Tumorzellen zu,

da bezüglich der Adielektronie alle Granulaformen einen heller granulierten oder einen dunklen homogenen Inhalt zeigen können.

Die Mehrzahl der Phäochromocytome, die von verschiedenen Autoren elektronenmikroskopisch untersucht wurden, waren NA- und A-sezernierende Tumoren. Gusek und Fock (1972) konnten keinen Unterschied zwischen einem A- und NA-sezernierenden und einem ausschließlich A-sezernierenden Phäochromocytom darstellen. Brown *et al.* (1972) stellten in einem einzigen ihrer acht Tumoren, der fast ausschließlich NA-sezernierte, eine deutliche Abnahme von hellen Granula fest. Auch in unserem Fall 6 sind im Gegensatz zu den übrigen Tumoren helle Granula kaum vorhanden. In den übrigen Fällen kommen die hellen mit einer deutlichen subgranulären Struktur zusammen mit den homogen osmiophilen Granula in denselben Zellen vor. Auch bei unserem nicht tumoralen menschlichen Nebennierenmark sind beide Granulatypen in ein und derselben Zelle vorhanden. Brown *et al.* (1971) sehen in dem Fehlen eines einheitlichen Granulatyps in den verschiedenen Zellen einen Unterschied des menschlichen Nebennierenmarks gegenüber dem der Ratte. In dem von uns untersuchten menschlichen Nebennierenmark konnten wir feststellen, daß einige Zellabschnitte ausschließlich stark osmophile Granula enthalten. Die hellen Granula kommen demgegenüber in den Zellen immer mit den dunklen vermischt vor.

Neuronale Zellelemente

Die Mehrzahl der Tumorzellen in Fall 6 wird durch das konstante Vorhandensein eines großen Kernkörperchens, die häufige Bildung breiterer dendritenartiger Fortsätze und dem Reichtum an Mikrotubuli gekennzeichnet. Weitere Merkmale, die allerdings mit anderen Zelltypen der übrigen Tumoren gemeinsam vorkommen, sind die Armut an phäochromen Granula und die starke Entwicklung des e.R. Diese Merkmale sowie die Verteilung der cytoplasmatischen Organellen deuten auf die neuronale Natur der Zellen hin.

Das Vorhandensein zahlreicher typischer Phäochromocytomzellen im gleichen Fall und das Fehlen synaptischer Strukturen sowie die klinischen Daten bestätigen die histologische Diagnose. Im Gegensatz zu allen anderen Tumoren hat der Fall 6 nur Noradrenalin ausgeschieden. In den einzelnen Fällen von nur NA-sezernierenden Phäochromocytomen (Brown *et al.*, 1972; Gusek u. Fock, 1972) wurde eine neuronale Beteiligung im Tumoraufbau nicht gefunden.

In den Fällen 3, 4 und 5 kommen Zellen mit stark entwickeltem e.R. zum Teil in ergastoplasmatischer Anordnung und mit weniger oder keiner phäochromen Granula vor. Im Fall 4 kann man in ihrem Cytoplasma Mikrotubuli erkennen. Das Fehlen dendritenartiger Fortsätze sowie das Vorkommen von Übergangsformen, in denen ein Teil des Cytoplasmas reichliche Granula aufweist, läßt ihre sichere Einordnung als neuronale Zellelemente nicht zu.

Elektronenmikroskopisch sind in den Phäochromocytomen bis jetzt keine Nervenzellen beschrieben worden, aber lichtmikroskopisch wiederholt (Herxheimer, 1913; Cushing u. Burt, 1927; Wahl u. Craig, 1938, und neuerdings Gasser *et al.*, 1965). Fall 6 ist ebenfalls der einzige Tumor, bei dem Nervenfasern gefunden werden konnten. Brown *et al.* (1972) weisen auf das Fehlen von Nervenfasern in den Phäochromocytomen, auch den extraadrenalen, zum Unterschied gegenüber dem normalen Nebennierenmark hin.

Crout und Sjoerdsma (1964) teilen die Phäochromocytome in zwei Gruppen ein. Die erste Gruppe zeigt einen geringen Gehalt an Katecholaminen von weniger als 100 mg/Tumor und die zweite einen hohen Gehalt, der von 329 mg bis 10 600 mg/Tumor reicht. Der Umsatz an Katecholaminen in der ersten Gruppe beträgt durchschnittlich $0,68 \times$ /Tag, während die zweite Gruppe nur $0,08 \times$ /Tag erreicht. Rosenthal *et al.* (1966) fanden bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung eines Tumors der ersten Gruppe eine im Vergleich mit den übrigen Beschreibungen der Literatur nur geringe Zahl von phäochromen Granula. Bei Berücksichtigung des Tumorgewichts, der Ausscheidungsrate und phäochromen Granula lassen sich unsere Tumoren nicht leicht in eine solche Gruppierung einordnen. An Hand des morphologischen Bildes allein ist es möglich, bei geringerem Granulabesatz zu entscheiden, ob eine starke Sekretion oder eine niedrige Produktion die Ursache dafür sind.

Die kennzeichnende Zellpolymorphie der Phäochromocytome mit dem Vorkommen zahlreicher Zellen, die sehr arm an phäochromen Granula sind und ein reichliches endoplasmatisches Reticulum und z.T. auch eine hyperplastische Golgi-Zone aufweisen, spricht eher dafür, daß sich die verschiedenen Zellen innerhalb des Tumors in unterschiedlichen Stadien des Funktionszyklus befinden (Yokoyama u. Takayasu, 1969).

Speichernde und synthetisierende Zellen

Unterschiede in der Zahl der phäochromen Granula spielen eine Rolle in der Differenzierung „speichernder“, „sezernierender“ und „synthetisierender“ Zellen (Benedeczky, 1967; Benedeczky u. Lapis, 1968). Die verschiedenen Funktionszustände gehen mit Änderungen der Golgi-Zonen, des e.R. und den Anzeichen des aktiven Transports in den Plasmamembranen einher. Sie sind von den Unterschieden zwischen A- und N-Zellen unabhängig und lassen sich nur z.T. mit den verschiedenen Zelltypen Ia, Ib und Ic, die von Yokoyama und Takayasu (1969) als Ausdruck des Funktionszyklus der Phäochromocytomzellen gedeutet wurden, in Übereinstimmung bringen.

Weitere Zelltypen

Unter den hellen Zellen, die besonders arm an phäochromen Granula sind, lassen sich mehrere Typen unterscheiden:

a) Großleibig mit gelapptem Kern bzw. mehrkernig, deren Cytoplasma meistens reichlich e.R. beinhaltet (Fälle 1, 2, 4, 5). Diesen Zellen sollten auch diejenigen zugeordnet werden, die eine hyperplastische Golgi-Zone zeigen (Fall 2). Sie sind Ausdruck der lichtmikroskopisch festgestellten Pleomorphie der Phäochromocytome (Belt u. Powell, 1934; Ewing, 1940; Blacklock *et al.*, 1947).

b) Die nur im Fall 5 vorkommenden Zellen mit excessivem Reichtum an Mitochondrien dürften den bei diesen Tumoren lichtmikroskopisch oft beschriebenen Onkocyten entsprechen (Shervin, 1959; Cavallero, 1964).

c) Als letzte innerhalb dieser Gruppe sind Zellen mit Merkmalen einer weitgehenden Degeneration. Im organellenarmen Cytoplasma finden sich geronnene Eiweißmassen (Fall 1). Gelegentlich zeigen diese Zellen eine excessive Anhäufung von Glykogengranula (Fall 5). Auch Vacuolen der Fälle 2 und 6 sind als Degenerationserscheinungen aufzufassen. Demgegenüber entsprechen die Vacuolen mit

einem feingranulären Inhalt (Fall 4) denen, die Ratzenhofer und Auböck (1968) in einem Phäochromocytom beschrieben haben.

Dunkle Zellen

Lichtmikroskopisch sind im normalen Nebennierenmark des Menschen und verschiedener Species wiederholt „dunkle“ und „helle“ Zellen beschrieben worden. Ihr Erscheinen wurde auf einen unterschiedlichen Sekretionszustand zurückgeführt (Hion, 1927; Goormaghtigh, 1931; Bennett, 1941; Bachmann, 1954). Bei Phäochromocytomen wird die gelegentlich erwähnte unterschiedliche Färbbarkeit (Dietrich u. Siegmund, 1926) durch die ausgesprochene Zellpleomorphie überdeckt. Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen von normalem Nebennierenmark verschiedener Species wurden „helle“ und „dunkle“ Zellen wiederholt erwähnt (Lever, 1955; Yates *et al.*, 1962; Bretschneider *et al.*, 1962; Benedeczky *et al.*, 1964 u. 1966; Sherwin, 1968) und auf die unterschiedliche Menge phäochromer Granula zurückgeführt.

Im eigenen Material läßt sich ebenfalls zwischen dunklen und hellen Zellen unterscheiden. Dabei fällt auf, daß im Gegensatz zur Auffassung der meisten Autoren, die helle und dunkle Zellen beschreiben, die Ursache der unterschiedlichen Adielektrone nicht an der Zahl der Granula, sondern am Cytoplasma liegt.

Ratzenhofer und Auböck (1968) erkannten ebenfalls, daß die dunkleren Zellen der von ihnen untersuchten Phäochromocytome ein dichteres Grundplasma besitzen, fügten jedoch als weiteren Grund des dunkleren Aussehens die Zahl der Granula hinzu.

Es muß in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, daß das Auftreten von hellen und dunklen Zellen eine Erscheinung ist, die in den verschiedensten Geweben vorkommt. Es kann durch unterschiedliche exogene Wirkungen herbeigeführt werden (Steiner, Carruthers u. Kalifat, 1962; Thoenes u. Bannasch, 1962; Steiner u. Baglio, 1963) und wurde z.T. auch durch das Vorhandensein verschiedener Druckverhältnisse innerhalb eines Gewebes erklärt (Cervós-Navarro u. Vázquez, 1969).

Literatur

- Bachmann, R.: Die Nebenniere. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VI, Teil 5. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954
- Bässler, R., Habighorst, L. V.: Vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nebennierenmark und Phäochromocytom. Beitr. path. Anat. **130**, 446—488 (1964)
- Belt, A. E., Powell, T. O.: Clinical manifestations of the chromaffin cell tumors arising from the suprarenal medulla. Surg., Gynec. Obstet. **59**, 9—24 (1934)
- Benedeczky, I.: Ultrastructural analysis of adrenaline resynthesis following insulin treatment. Acta morph. hung. Acta. Sci. **15**, 23—37 (1967)
- Benedeczky, I., Lapis, K.: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nebennierenmark und Phäochromocytom des Menschen. Electron Microscopy of human adrenal medulla and pheochromocytoma. Beitr. path. Anat. **137**, 403—438 (1968)
- Benedeczky, I., Puppi, A., Tigyi, A., Lissák, K.: Various cell types of the adrenal medulla. Nature (Lond.) **204**, 591—592 (1964)
- Benedeczky, I., Puppi, A., Tigyi, A., Lissák, K.: Various cell types in the adrenal medulla. Nature (Lond.) **209**, 592—594 (1966)
- Bennett, H. S.: Cytological manifestation of secretion in the adrenal medulla of the cat. Amer. J. Anat. **69/3**, 333—381 (1941)

- Blacklock, J. W. S., Ferguson, J. W., Mack, W. S., Shafar, J., Symington, T.: Phaeochromocytoma. *Brit. J. Surg.* **35**, 179—197 (1947)
- Bretschneider, H. J., Schattenfroh, C., Schoeb, J. O.: Clinical aspects and morphology of different pheochromocytoma types. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **299**, 665—692 (1962)
- Brown, W. J., Barajas, L., Latta, H.: The ultrastructure of the human adrenal medulla: with comparative studies of white rat. *Anat. Rec.* **169**, 173—184 (1971)
- Brown, W. J., Barajas, L., Waisman, J., de Quattro, V.: Ultrastructural and biochemical correlates of adrenal extraadrenal pheochromocytoma. *Cancer (Philad.)* **29**, 744—759 (1972)
- Buccianti, G., Meneghelli, V.: Sulla struttura del feocromocitoma analizzata al microscopio elettronico. *Acta med. patav.* **24**, 653 (1964)
- Cavallero, C.: I Simp. con discussione a tavola rotonda. II Feocromocitoma. *Chir. triven.* **4**, 115 (1964)
- Cervós-Navarro, J., Vazquez, J. J.: An electron microscopic study of meningiomas. *Acta neuropath. (Berl.)* **13**, 301—323 (1969)
- Coupland, R. E.: Electron microscopic observations on the structure of the rat adrenal medulla. I. The ultrastructure and organization of chromaffin cells in the normal adrenal medulla. *J. Anat. (Lond.)* **99**, 231—254 (1965a)
- Coupland, R. E., Hopwood, D.: Mechanism of a histochemical reaction differentiating between adrenaline and noradrenaline-storing cells in the electron microscope. *Nature (Lond.)* **209**, 590—591 (1966)
- Coupland, R. E., Pyper, A. S., Hopwood, D.: A method for differentiating between noradrenaline- and adrenaline-storing cells in the light- and electron microscope. *Nature (Lond.)* **201**, 1240—1242 (1964)
- Crout, J. R., Sjoerdsma, A.: Turnover and metabolism of catecholamines in patients with pheochromocytoma. *J. clin. Invest.* **43**, 94—102 (1964)
- Cushing, H., Burt, W. S.: The transformation of a malignant paravertebral sympatheticoblastoma into a benign ganglioneuroma. *Amer. J. Path.* **3**, 203 (1927)
- Dietrich, A., Siegmund, H.: Die Nebenniere und das chromaffine System (Paraganglien, Steißdrüse, Karotisdrüse). In: *Handbuch der speziellen pathol. Anatomie und Histologie*, Bd. 8, S. 951—1089. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1926
- Elfvin, L. G.: The fine structure of the cell surface of chromaffin cells in the rat adrenal medulla. *J. Ultrastruct. Res.* **12**, 263—286 (1965a)
- Ewing, J.: *Neoplastic diseases: a treatise on tumors*, ed. 4, p. 839—840. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1940
- Gasser, G., Kühböck, J., Obiditsch-Mayer, I.: Pheochromocytoma under the clinical picture of chronic hypertension. *Wien Z. Inn. Med.* **46**, 217—225 (1965)
- Goormaghtigh, N.: Surrénales et thermorégulation. Tests morphologiques d'activité médullo-surrénale. *Arch. Biol. (Liège)* **41**, 109—142 (1931)
- Greenberg, R., Rosenthal, I., Falk, G. S.: Electron microscopy of human tumors secreting catecholamines: correlation with biochemical data. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **28**, 475—500 (1969)
- Gusek, W., Fock, M.: Ultrastruktur hormondifferenter Phäochromocytome. *Acta endocr. (Kbh.)*, Suppl. **159**, 84 (1972)
- Herxheimer, G.: Über Tumoren des Nebennierenmarkes, insbesondere das Neuroblastoma sympathicum. *Beitr. path. Anat.* **57**, 112 (1913)
- Hion, J. V.: Zur Histologie der Nebennieren bei erschöpften Tieren. *Fol. neuropath. eston.* **7**, 178—189 (1927)
- Kleinschmidt, A., Schümann, H. J.: Strukturuntersuchungen über die Adrenalin und Noradrenalin speichernden Granula des Nebennierenmarks. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. exp. Path. Pharmak.* **241**, 260 (1961)
- Laumonier, R., Marche, Cl., Marche, J.: Etude ultrastructurale d'un phaeochromocytome. *Ann. Anat. path.* **13**, 137—146 (1968)
- Lever, J. D.: Electron microscopic observations on the normal and denervated adrenal medulla of the rat. *Endocrinology* **57**, 621—635 (1955)
- Luse, S.: Ultrastructural characteristics of normal and neoplastic cells. *Progr. exp. Tumor Res. (Basel)* **2**, 1—35 (1961)

- Misugi, K., Misugi, N., Newton, W.A. Jr.: Fine structural study of neuroblastoma, ganglio-neuroblastoma, and pheochromocytoma. *Arch. Path.* **86**, 160—170 (1968)
- Moppert, J.: Zur Ultrastruktur der phaeochromen Zellen im Nebennierenmark der Ratte. *Z. Zellforsch.* **74**, 32—44 (1966a)
- Morini, P.L., Fazzini, G.: Considerazioni sugli aspetti umorali, citochimici ed ultrastrutturali di un caso di feocromocitoma. *Folia endocr. (Roma)* **21**, No 3 (1968)
- Page, L.B., Jacobi, G.A.: Catecholamine metabolism and storage granules in pheochromocytoma and neuroblastoma. *Medicine (Baltimore)* **43**, 379—386 (1964)
- Ratzenhofer, M., Auböck, L.: Zur Kenntnis vom Feinbau und Sekretionsmechanismus der Phäochromocytome. On Ultrastructure and secretion of pheochromocytoma. *Beitr. path. Anat.* **137**, 36—64 (1968)
- Rosenthal, I.M., Greenberg, R., Goldstein, R., Kathan, R., Cadkin, L.: Catecholamine metabolism in a pheochromocytoma. Correlation with electron micrographs. *Amer. J. Dis. Child.* **112**, 389—395 (1966)
- Sherwin, R.P.: Histopathology of pheochromocytoma. *Cancer (Philad.)* **12**, 861—877 (1959)
- Sherwin, R.P.: New aspects of the chromoreactions for the diagnosis of pheochromocytoma. *Amer. J. clin. Path.* **43**, 200—206 (1965)
- Sherwin, R.P.: The adrenal medulla, paraganglia and related tissues. In: *Endocrine pathology*, J.M.B. Bloodworth jr., ed., Baltimore: Williams & Wilkins 1968
- Steiner, J.W., Baglio, C.M.: Electron microscopy of the cytoplasm of parenchymal liver cells Naphthylisothiocyanate—induced cirrhosis. *Lab. Invest.* **12**, 765 (1963)
- Steiner, J.W., Carruthers, J.S., Kalifat, S.R.: Observations on the fine structure of rat liver cells in extrahepatic cholestasis. *Z. Zellforsch.* **58**, 141 (1962)
- Thoenes, W., Bannasch, P.: Elektronen- und lichtmikroskopische Untersuchungen am Cytoplasma der Leberzellen nach akuter und chronischer Thiocetamid-Vergiftung. *Virchows Arch. path. Anat.* **335**, 556 (1962)
- Wahl, H.R., Craig, P.E.: Multiple tumors of the sympathetic nervous system. Report of a case showing a distinct ganglioneuroma, a neuroblastoma and a cystic calcifying ganglio-neuroblastoma. *Amer. J. Path.* **14**, 797 (1938)
- Wassermann, G., Tramezzani, J.H.: Separate distribution of adrenaline- and noradrenaline-secreting cells in the adrenal of snakes. *Gen. comp. Endocr.* **3**, 480—489 (1963)
- Wood, J.G., Barrnett, J.R.: Histochemical demonstration of norepinephrine at a fine structural level. *J. Histochem. Cytochem.* **12**, 197—209 (1964)
- Yates, R.D., Wood, J.G., Duncan, D.: Phase and electron microscopic observations on two cell types in the adrenal medulla of the syrian hamster. *Tex. Rep. Biol. Med.* **20**, 494—502 (1962)
- Yokoyama, M.: An electron microscopic study of the human adrenal medulla and pheochromocytoma. *J. Urol. Soc. Japan* **57**, 1095—1121 (1966)
- Yokoyama, M., Takayasu, H.: An electron microscopic study of the human adrenal medulla and pheochromocytoma. *Urol. int. (Basel)* **24**, 79—95 (1969)

Prof. Dr. J. Cervós-Navarro
Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Institut für Neuropathologie
D-1000 Berlin 45
Hindenburgdamm 30