

## Zur Ultrastruktur der hyperplastischen und adenomatösen ACTH-Zellen beim Cushing-Syndrom hypothalamisch-hypophysärer Genese\*

W. Saeger

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

Eingegangen am 29. September 1973

### Ultrastructure of Hyperplastic and Adenomatous Corticotrophic Cells in Cushing's Syndrome of Hypothalamic-Hypophyseal Origin

*Summary.* 5 cases with Cushing's syndrome had typical hormone levels indicating hyperadrenocorticism due to a hypothalamic-hypophyseal disturbance, which was treated by transnasal transsphenoidal hypophysectomy. The anterior pituitary glands of all cases were studied under light and electron microscopes. Compared with normal controls an elevated number of corticotrophic cells were present. Many of them were enlarged and sparsely granulated and large Golgi complexes, elevated amounts of ribosomes, and many immature secretory granules were found in the ultrastructure, indicating a high degree of secretory activity. In 3 cases multiple hyperplasias of corticotrophic cells were found. These consisted of relatively small cells with many secretory granules and pleiomorphic and moderately hyperchromatic nuclei which were regarded as signs of proliferation. In one case the transition of hyperplasias into a mucoid cell adenoma was demonstrated. The cells of this adenoma reacted histochemically like normal ACTH cells. The ultrastructure was characterized by multipolar outlines, large Golgi complexes, many secretory granules, many ribosomes, small accumulations of fine filaments, and pleomorphism of the nuclei with cytoplasmic invaginations. The morphology of this adenoma was almost identical with the structure of corticotrophic adenomas developed after bilateral adrenalectomy (Nelson's adenoma). Moreover in 4 cases cells with Crooke's hyalinization were found. The causes of their presence are discussed.

Als Ursache des Cushing-Syndroms mit bilateraler Nebennierenrindenhyperplasie wird heute eine primär hypothalamische Störung angenommen, die sich in einer Aufhebung der Tagesrhythmik des Corticotropin-releasing-factors (CRF) äußert (Tamm, 1961). Hieraus resultiert durch eine übermäßige Stimulation der ACTH-Zellen des Hypophysenvorderlappens eine stark erhöhte ACTH-Sekretion (Jores, 1935; Liddle *et al.*, 1962; Ney *et al.*, 1963; Retiene *et al.*, 1965; Nelson *et al.*, 1966).

Das morphologische Substrat dieser ACTH-Überproduktion beruht generell auf einer Vermehrung der ACTH-produzierenden Zellen, welche diffus (Urban, 1937; Bauer, 1950; Plotz *et al.*, 1952), feinknotig (Zimmermann und Kracht, 1965) oder adenomatös (Cushing, 1932; Bauer, 1950; Plotz *et al.*, 1952; Marks, 1959; Orthner *et al.*, 1959; Sakassa *et al.*, 1959; Cassidy, 1960; Dingman und Lim, 1962; Kracht *et al.*, 1966; Rovit und Berry, 1965) sein kann. Sehr selten kommen auch invasiv wachsende Adenome bzw. Carcinome vor (Plotz *et al.*, 1952; Salassa

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

*et al.*, 1959; Kracht und Tamm, 1963; Rovit und Berry, 1965; Rovit und Duane, 1969).

Eine genaue Abgrenzung der diffusen von den feinknotigen Hyperplasien und den Adenomen ist vielfach nicht möglich. Es lassen sich stellenweise Übergänge von Hyperplasien zu Adenomen erahnen, so daß — entsprechend der Definition von Büngeler (1951) — eine hyperplasiogene Entstehung der Adenome gefolgt wurde (Kracht, 1963; Marguth, 1965; Müller und Tzonos, 1969; Rovit und Duane, 1969).

Da die ACTH-Zellen dem Mucoidzellkomplex angehören, was immunhistologisch gesichert wurde (Pearse und van Noorden, 1963; Kracht und Hachmeister, 1969), zeigen auch die Hyperplasien und die Adenome eine Affinität zu schleimfärbenden Substanzen. Dennoch wurden ACTH-sezernierende chromophobe Adenome beschrieben (Plotz *et al.*, 1952; Marks, 1959; Salassa *et al.*, 1959; Cassidy, 1960; Dingman und Lim, 1962; Rovit und Berry, 1965), wofür wahrscheinlich differente Methoden der Aufarbeitung und unterschiedliche Kriterien der Befunderhebung verantwortlich zu machen sind.

Ultrastrukturelle Untersuchungen von diffusen und knotigen ACTH-Zellhyperplasien liegen bisher in der Literatur nicht vor, da derartige Fälle bisher überwiegend primär adrenalektomiert und nur selten hypophysektomiert wurden. Neue Verfahren der Hypophysektomie auf transnasalem-transsphenoidalem Zugangsweg (Hardy, 1969; Kautzky und Lüdecke, 1973) eröffneten die Möglichkeit, die Patienten mit hypothalamisch-hypophysär bedingtem Cushing-Syndrom bei einem relativ geringen Risiko zu hypophysektomieren und damit auch der möglichen Entstehung sog. Nelson-Adenome (Nelson *et al.*, 1958) vorzubeugen.

Anhand 5 eigener Fälle konnten wir die ACTH-Zellen, ihre Hyperplasien und in einem Fall auch ein ACTH-Zelladenom im resezierten Hypophysenvorderlappengewebe licht- und elektronenoptisch untersuchen. Wir hoffen, dabei Aufschlüsse über den Stimulierungsgrad der Einzelzelle und mögliche Hinweise für eine erhöhte Wachstumsrate zu gewinnen und möchten Vergleiche mit den nach Adrenalektomie aufgetretenen ACTH-Zelladenomen (sog. Nelson-Adenomen) (Nelson *et al.*, 1958) anstellen.

### Material and Methodik

Zur Untersuchung gelangte Hypophysenvorderlappengewebe<sup>1</sup> von 5 Patienten mit Cushing-Syndrom, das auf transnasalem-transsphenoidalem Zugangsweg operativ gewonnen wurde<sup>1</sup>. Durch die präoperative Diagnostik konnte eine beidseitige Nebennierenrindenhyperplasie bei hypothalamisch-hypophysärer Regulationsstörung angenommen werden<sup>2</sup>. In allen Fällen wurden erhöhte Plasmacortisolwerte nachgewiesen<sup>2</sup> (Tabelle 1). In einem Fall (Fall 5) wurde mit biologischen Methoden das Plasma-ACTH bestimmt und stark erhöht gefunden<sup>3</sup> (Tabelle 1).

Am Operationstag wurden den Patienten zur Schockprophylaxe hohe Dosen von Cortisol appliziert.

Wir danken:

1 Herrn Prof. Dr. Kautzky (Direktor der Neurochirurgischen Abteilung) für die Überlassung des Gewebsmaterials.

2 Herrn Prof. Dr. Nowakowski (Geschäftsführender Direktor der II. Medizinischen Universitätsklinik) für die klinischen Angaben.

3 Herrn Dr. Espinoza (II. Medizinische Universitätsklinik) für die ACTH-Werte.

Tabelle 1. Klinik und Histologie der Cushing-Fälle

Fälle	1	2	3	4	5
Klinik	A. P. 26jährige Frau	E. O., 41jährige Frau	A. K., 35jährige Frau	G. A., 48jährige Frau	U. D., 35jähriger Mann
Plasmacortisol <sup>a</sup>	++	+	++	++	+++
17-OHCS <sup>a</sup>	(+)	(+)	++	++	++
ACTH <sup>a</sup>					++
Sonstiges		Hirsutismus	Diabetes mellitus, Hypertonie, Hyperlipidämie		Zustand nach subtotaler Adrenalektomie Diabetes mellitus, Hypertonie
Histologie J.-Nr.	6020/72	24509/71	3168/72	3577/72	1406/73
ACTH-Zellen					
Vermehrung	(+)	+	++	(+)	+
Hyperplasien	+	(+)	++		+
Adenom			+		
Schwach granuliert u. gering vergrößert	++	++	+	+	+
Mittelgradig granuliert	+	+++	++	(+)	++
Voll granuliert			(+)	(+)	+
Crooke-Zellen	++		++	+++	+

<sup>a</sup> (+) = gering erhöht, + = deutlich erhöht, ++ = stark erhöht, +++ = sehr stark erhöht.

Zum Vergleich der morphologischen Befunde wurde weitgehend normales Adenohypophysengewebe von Patientinnen untersucht, die zur Behandlung eines metastasierten Mammacarcinoms hypophysektomiert worden waren.

Für die Histologie wurde Gewebe in neutralem Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin, PAS, Azan und Perameisensäure-Alcianblau-PAS-Orange G nach Adams und Swettenham (1958) gefärbt.

Für die Elektronenmikroskopie wurden etwa 15 Gewebsstücke von jeder Hypophyse aufgearbeitet: Fixierung in 3% Glutaraldehyd/Cacodylatpuffer bei einem pH von 7,2–7,4, Nachfixierung in s-Collidin gepuffertem Osmiumtetroxyd, Einbettung in Epon 812. Anfertigung von Toluidinblau- und PAS-gefärbten Semidünnschnitten, nach denen die Auswahl für die Feinschnitte erfolgte. Diese wurden auf dem Ultramikrotom Reichert geschnitten und in wässrigem Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Mikroskopiert wurde mit dem Zeiss Elektronenmikroskop EM 9 a.

### Befunde

#### *Histologie*

Bei der Befunderhebung an den Paraffinschnitten wurden die Parenchymzellen als ACTH-Zellen angesehen, die nach Oxydation mit Perameisensäure in der Färbemethode nach Adams und Swettenham (1958) ihre PAS-Positivität

bewahrten (R-Zellen) (Pearse und van Noorden, 1963; Kracht *et al.*, 1967) (Abb. 1a). Als Charakteristika der ACTH-Zellen in den Semidünnschnitten von dem in Epon eingebetteten Gewebsmaterial gelten nach der Anfärbung mit PAS die pericapilläre Lage, die anguläre Form und die peripher betonte Granulierung (Hachmeister *et al.*, 1971) (Abb. 1b).

Die wichtigsten unserer histologischen Untersuchungsergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt. Alle Hypophysen enthielten vermehrt ACTH-Zellen. Als Hyperplasien (Abb. 1c) wurden ACTH-Zellformationen aufgefaßt, wenn sie aus dichtgelagerten ACTH-Zellen bestanden, keine anderen Zellen dazwischen liegen und die normale alveoläre Grundstruktur der Adenohypophyse erhalten ist. Im Fall 3 fanden sich multiple Hyperplasien, die im Randgebiet zur Intermediärzone an ein Adenom grenzten. Dieses Adenom war aus medullär angeordneten, schwach bis mittelgradig granulierten ACTH-Zellen aufgebaut. Mit Ausnahme des Falles 2 fanden sich typische Crooke-Zellen (Abb. 1a) (Crooke, 1935).

In allen Fällen enthielten die meisten der schwach granulierten ACTH-Zellen (Abb. 1a) chromatindichtere Zellkerne mit deutlichen Nucleolen (Abb. 1b). Stellenweise ähnelten diese den sog. Crooke-Russell-Zellen (Crooke und Russell, 1935).

#### *Elektronenmikroskopie*

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden nur die Parenchymzellen herangezogen, die die aus der Literatur von Tierexperimenten her bekannten Kriterien der ACTH-Zellen erfüllten. Im normaktiven Zustand gelten hierbei folgende Charakteristika.

1. die blutgefäßnahe Lage, stellenweise die Auskleidung kleiner Follikel und die unregelmäßigen, zum Teil sternförmigen Umrisse (Farquhar, 1957; Herlant, 1964; Rennels, 1964; Kurosumi und Kobayashi, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Kurosumi, 1968; Nakayama und Skelton, 1968; Fawcett *et al.*, 1969; Bergland und Torack, 1969; Schechter, 1969; Siperstein und Miller, 1970; Peltier, 1971; Pelletier und Racadot, 1971; Lawzewitsch *et al.*, 1972);

2. villöse Ausstülpungen und Verzahnungen der Zellmembran, die bevorzugt bei jugendlichen Zellformen auftreten (Farquhar, 1957; Rennels, 1964; Kurosumi und Kobayashi, 1966);

3. die relativ lichte Cytoplasmamatrix (Farquhar, 1957; Rennels, 1964; Fawcett *et al.*, 1969; Lawzewitsch *et al.*, 1972);

4. um 200  $\mu$  große membranbegrenzte meistens peripher gelagerte Granula, welche teilweise — möglicherweise fixierungsbedingt (Kurosumi, 1968) — von hellen Höfen umgeben werden (Herlant, 1964; Kurosumi und Kobayashi, 1966; Siperstein und Allison, 1965; Kurosumi und Oota, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Nakayama und Skelton, 1968; Fawcett *et al.*, 1969; Siperstein und Miller, 1970; Peltier, 1971; Peltier und Racadot, 1971; Lawzewitsch *et al.*, 1972);

5. meist ringförmige Golgiefelder (Herlant, 1964; Peltier und Racadot, 1971);

6. nur wenig und überwiegend bruchstückhaftes rauhes endoplasmatisches Reticulum (Nakayama und Skelton, 1968; Peltier und Racadot, 1971);

7. reichlich freie Ribosomen (Lawzewitsch *et al.*, 1972);

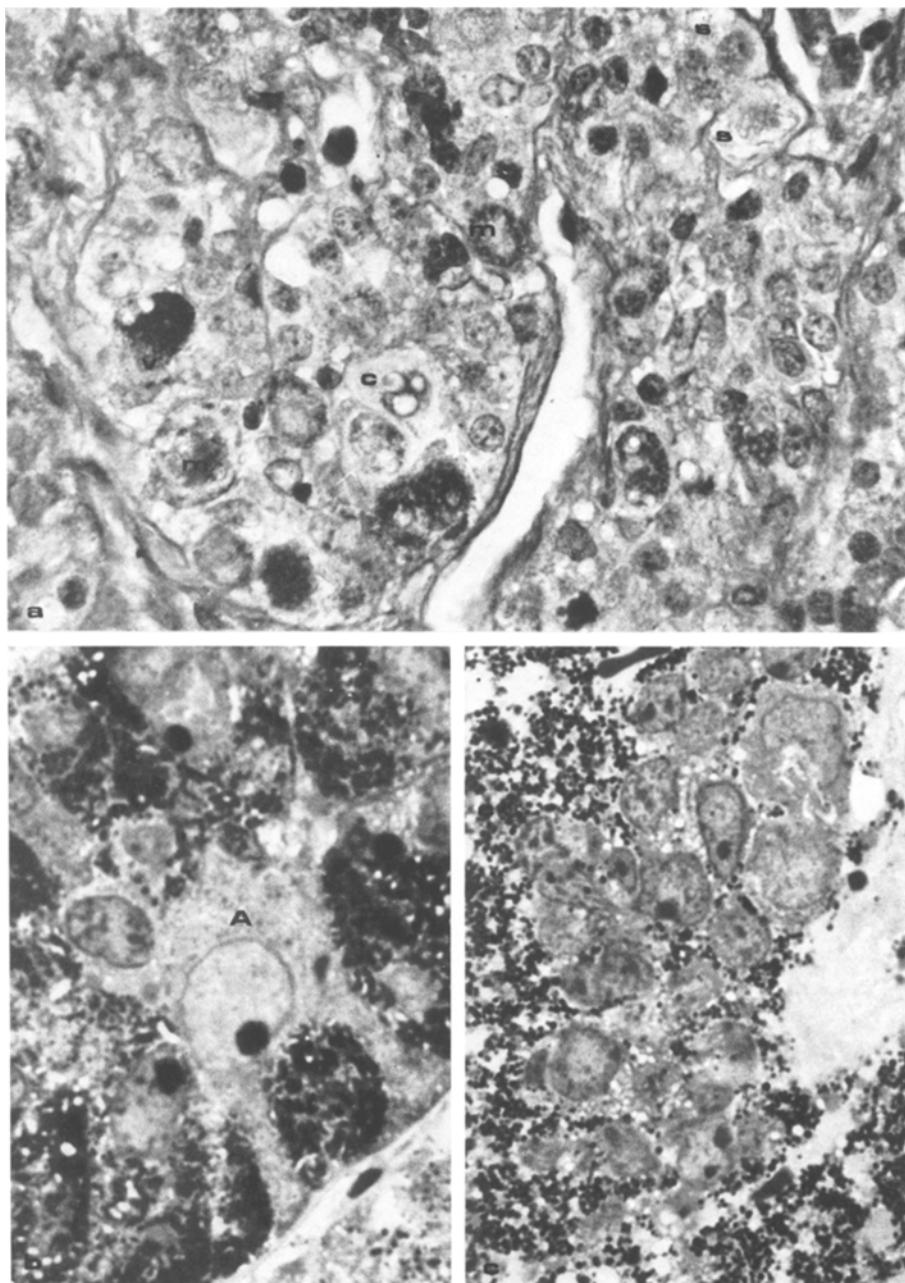


Abb. 1a—c. Histologie der ACTH-Zellen und ihrer Hyperplasien. a (Fall 5) Schwach (*s*), mittelmäßig (*m*) und voll (*v*) granulierte PAS-positive ACTH-Zellen sowie Crooke-Zellen (*c*). Perameisensäure-Alcianblau-PAS-Orange G. Vergr. 650×. b (Fall 2) Vergrößerte, granulärme und verzweigte ACTH-Zelle (*A*): Zellausläufer zur Basalmembran der Capillare, geringe periphere Granulierung, Nucleolus kompakt und groß. In der Umgebung acidophile Zellen. Toluidinblau (Semidünnschnitt), Vergr. 1620×. c (Fall 3) ACTH-Zellhyperplasie in Nachbarschaft des ACTH-Zelladenoms: dichtgelagerte ACTH-Zellen, nicht sicher abgrenzbare Zellgrenzen, reichlich Sekretgranula, chromatinreiche pleomorphe Zellkerne. Randlich ein Blutgefäß mit umgebendem Stroma. Toluidinblau (Semidünnschnitt), Vergr. 1200×

8. ovale bis rutenförmige Mitochondrien mit unterbrochenen Christae (Herlant, 1964; Kurosumi und Kobayashi, 1966; Kurosumi und Oota, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Siperstein und Miller, 1970; Lawzewitsch *et al.*, 1972);

9. mäßig viel Lipidkörper und einzelne multivesikuläre Körper (Kurosumi und Kobayashi, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Lawzewitsch *et al.*, 1972);

10. unterschiedlich viele Bündel von Cytofilamenten (Schechter, 1969) und

11. die etwas exzentrische Lage des Kerns (Kurosumi und Kobayashi, 1966; Yamada und Yamashita, 1967; Siperstein und Miller, 1970).

Unter Berücksichtigung dieser Kriterien fanden sich in allen untersuchten Hypophysen viele ACTH-Zellen, deren etwas unterschiedliches Organellen- und Kernmuster eine Untergliederung erlaubt.

#### a) Vergrößerte granulaarme ACTH-Zellen

Etwas vergrößerte ACTH-Zellen, die in der normalen Adenohypophyse nur sporadisch vorhanden waren, konnten reichlich nachgewiesen werden (Abb. 2). Ihre Zellmembranen besaßen villöse Ausstülpungen und viele Desmosomen. Ihr Organellengehalt war nicht wesentlich vermehrt, jedoch fielen vergrößerte ringförmige und teilweise gedoppelte Golgifelder mit vereinzelt cystisch dilatierten Cisternen und in ihrer Umgebung viele Prosekretgranula auf (Abb. 2). Auch imponierte eine Vermehrung des parallel angeordneten, überwiegend nur kurzen rauhen endoplasmatischen Reticulum und eine Zunahme der freien Ribosomen, zum Teil als Polysomen (Abb. 2). Die ausgereiften membranbegrenzten Sekretgranula waren etwas reduziert, größtenteils peripher angeordnet und zeigten viele Ausschleusungsvorgänge an den Zellmembranen. Die Mitochondrien ließen keine wesentlichen Abweichungen von der Normalstruktur erkennen; lediglich herdförmig waren sie etwas vermehrt. Lysosomale Lipidkörper waren stellenweise vorhanden und enthielten vereinzelt auch etwas Pigment (Abb. 2). Große multivesikuläre Körper und Cytofilamentbündel wurden in diesen Zellen nicht beobachtet. Vielfach fanden sich kleine intracytoplasmatische Vacuolen. Ciliarkörper waren nicht auffällig.

Die Zellkerne zeigten einzelne Einbuchtungen und einen vermehrten Heterochromatingehalt. Die Nucleolen waren — falls angeschnitten — deutlich vergrößert und besaßen eine gesprenkelte Pars amorpha.

#### b) ACTH-Zellhyperplasien

Besonders im Fall 3, aber auch in den Fällen 1 und 5 sowie umschrieben in Fall 2 fanden wir unterschiedlich große Komplexe von ACTH-Zellen mit einer deutlich vom Normalen abweichenden Ultrastruktur. Die Zellmembranen wiesen Verzahnungen und Mikrovilli auf. Unter den Organellen imponierten nur stellenweise dilatierte Golgifelder (Abb. 3a, b). Das Cytoplasma enthielt leere Vacuolen (Abb. 3b) sowie Vesikel, die wenig mäßig elektronendichtes Material beinhalteten, und ausgereifte membranbegrenzte Sekretgranula mit einem Durchmesser von 150—350 m $\mu$  (Abb. 3a, b). Schmale Cytofilamentbündel sind sporadisch nachweisbar. Auch unterschiedlich große, teilweise vacuolisierte Lipidkörper sind auffällig (Abb. 3a, b). Die Zellkerne besitzen einzelne Invaginationen (Abb. 3a) und deutlich vermehrtes Heterochromatin. Einzelne Zellen lassen zwischen 2 Kernen

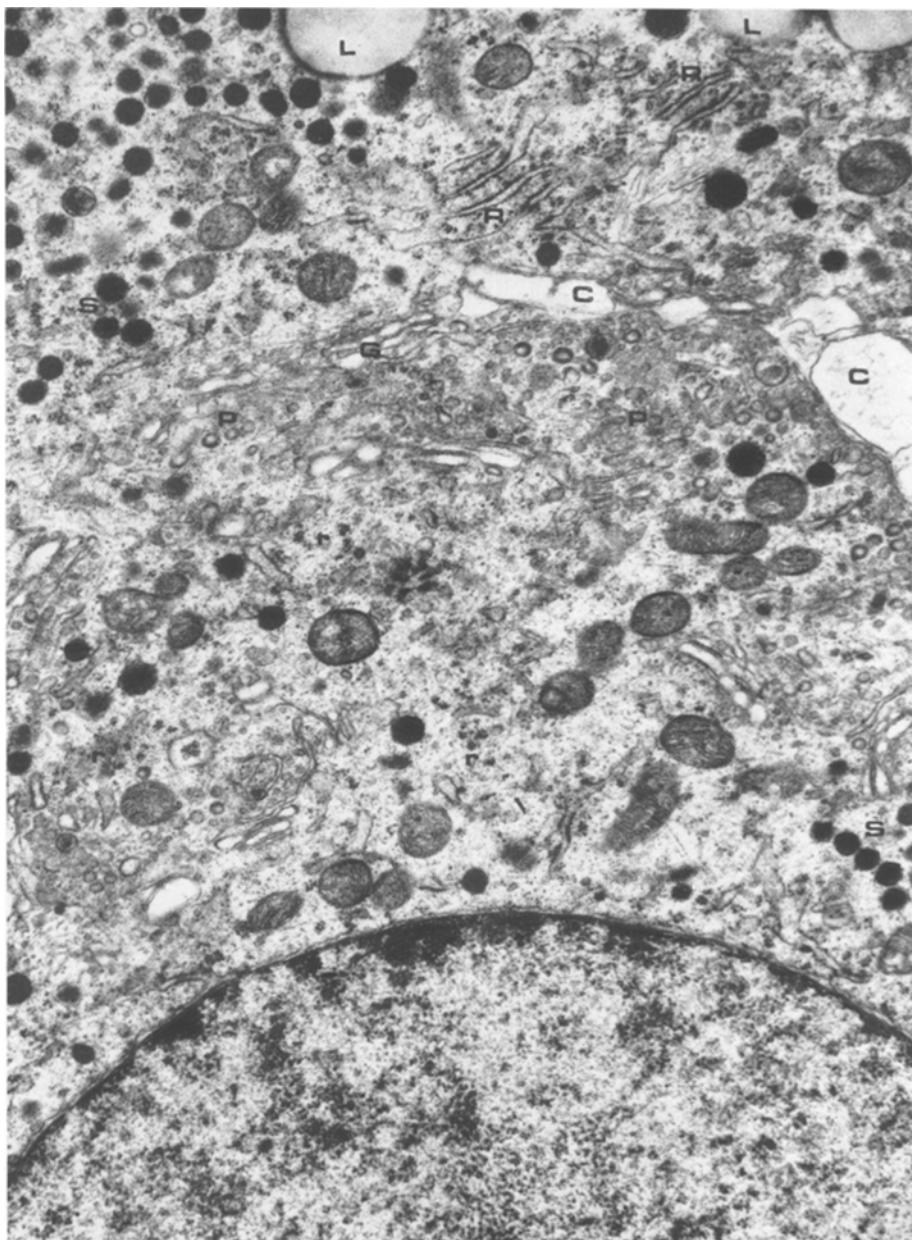


Abb. 2. Vergrößerte aktivierte ACTH-Zelle: vermehrt rauhes endoplasmatisches Reticulum (R), reichlich freie Ribosomen (r), großes Golgi-System (G) mit teilweise cystisch dilatierten Cisternen (C), viele Prosekretgranula (P), locker angeordnete Sekretgranula (S), einzelne Lipidkörper (L). (Fall 2), Vergr. 18300 ×

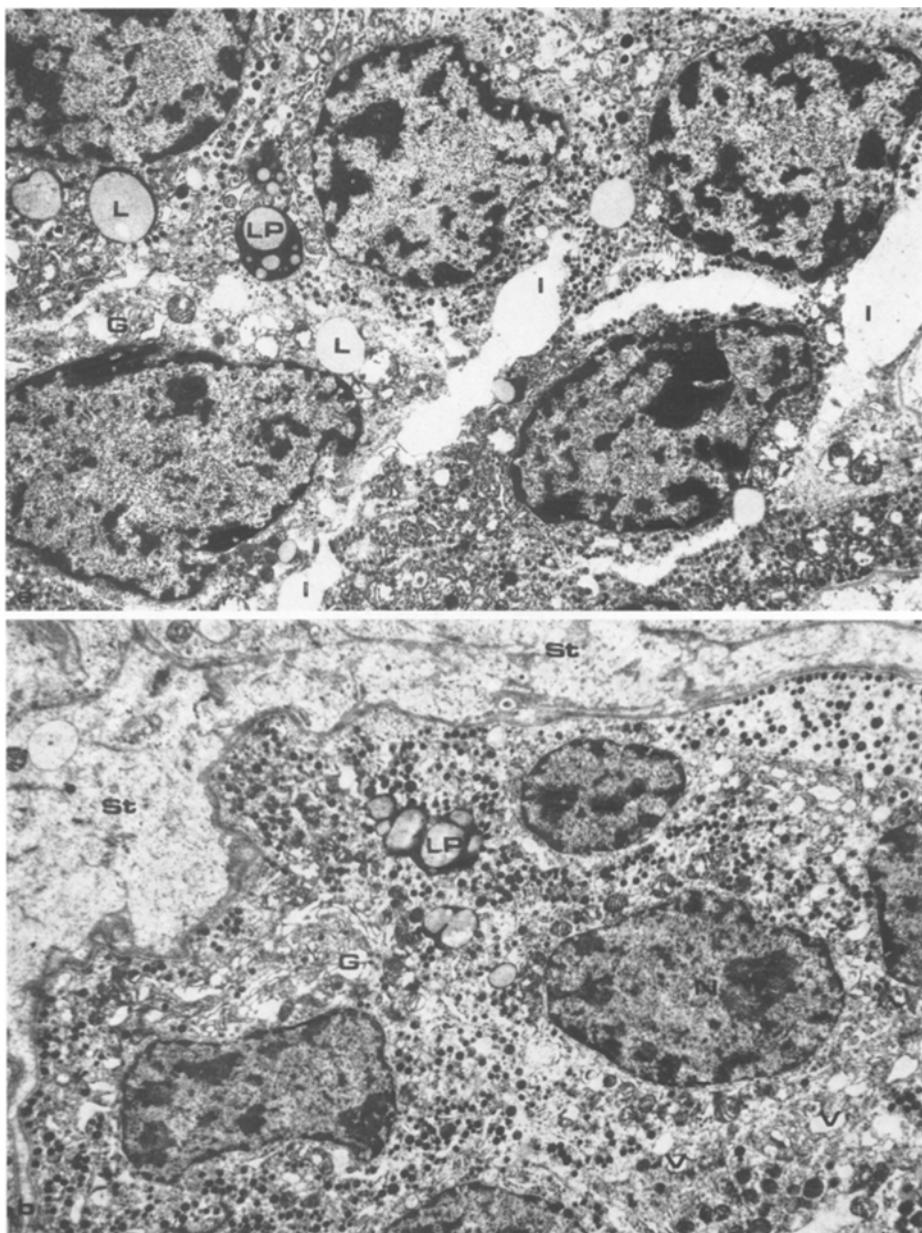


Abb. 3 a u. b. ACTH-Zellhyperplasien. a Mäßig geschlängelte Zellmembran, einzelne Golgi-felder (G), Sekretgranula, vereinzelt Lipidkörper (L), zum Teil mit Pigment (LP), Kerne mit Einbuchtungen und vermehrtem Chromatin. Ödem im Intercellulärspalt. (Fall 5), Vergr. 6450  $\times$ . b Zellmembran teilweise nicht nachweisbar, großes Golgifeld (G), kleine Vacuolen (V), Kerne mit zum Teil deutlichen Nucleolen (N). Extracellulär (St) Reste von Cytoplasma-organellen und Sekretgranula. (Fall 1), Vergr. 9400  $\times$

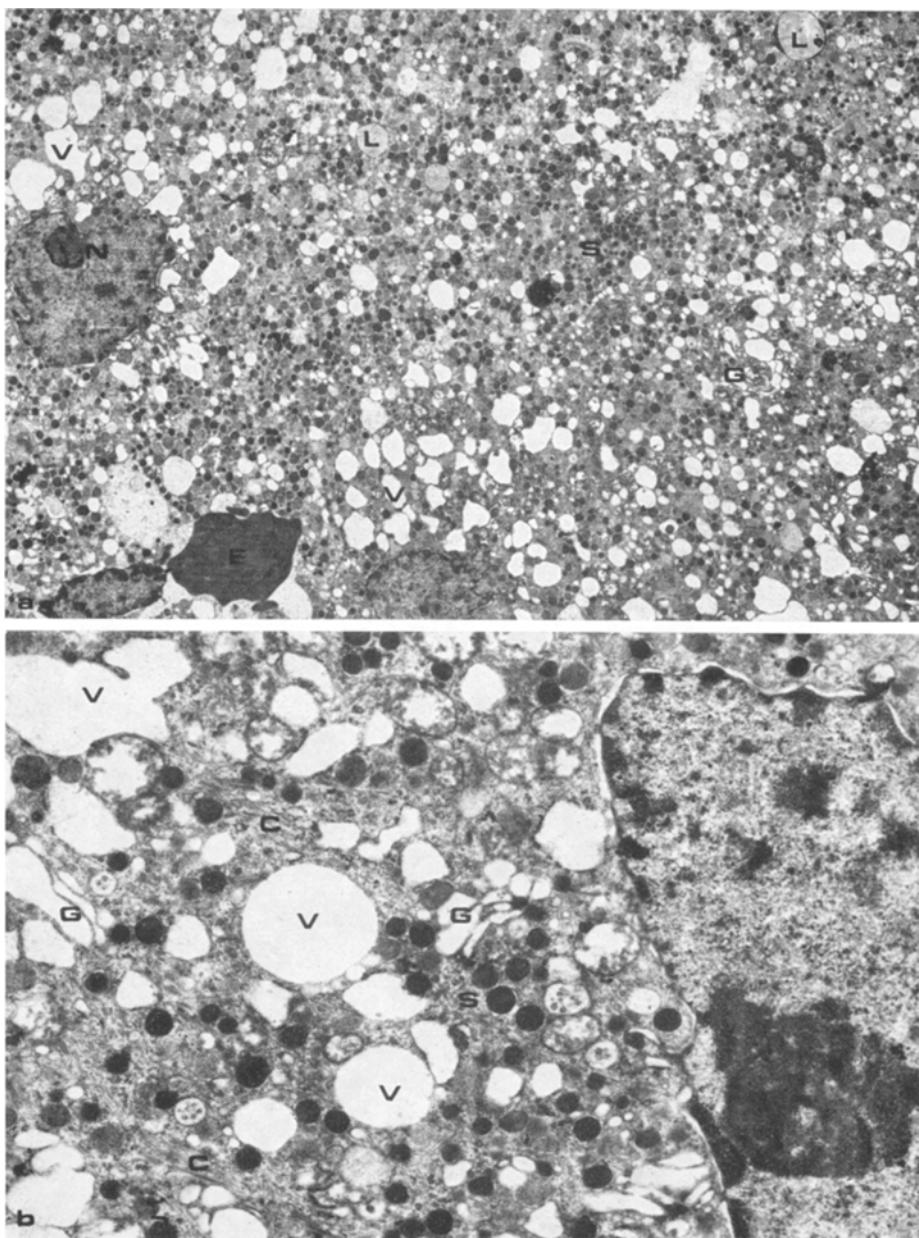


Abb. 4 a u. b. ACTH-Zelladenom. a Viele unterschiedlich große Sekretgranula (S) und Vacuolen (V), Golgifeld (G), kleine Lipidkörper (L), gelappte Zellkerne mit Nucleolen (N). Erythrocyten im Intercellulärspalt (Fall 3). Vergr. 3600  $\times$ . b Sekretgranula (S) mit schmalem hellen Hof, Vacuolen (V), gedoppeltes Golgifeld (G), feine Bündel von Cytofilamenten (C) (Fall 3). Vergr. 13500  $\times$

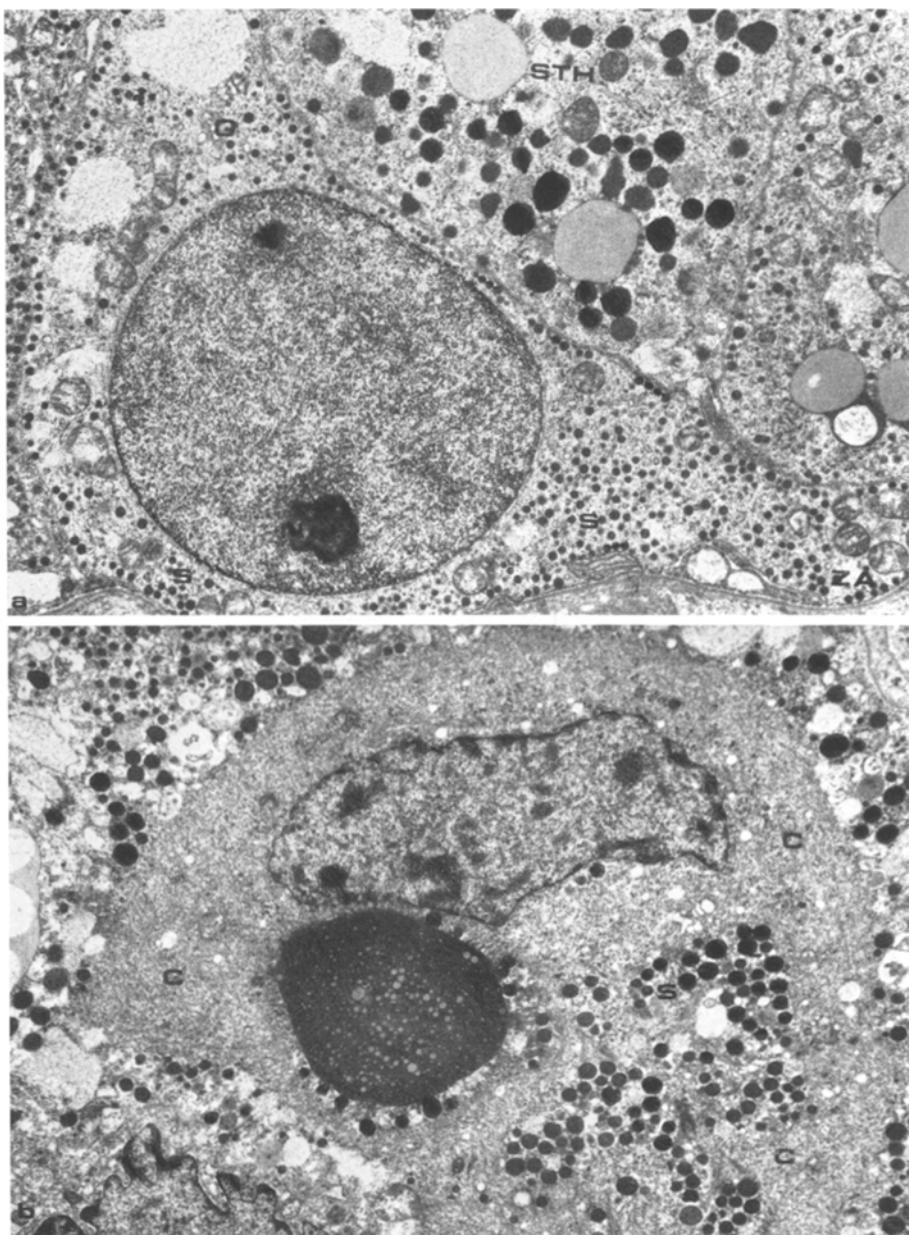


Abb. 5a u. b. Stärker granulierte ACTH-Zelle und Crooke-Zelle. a ACTH-Zelle mit Zellausläufer (ZA) zur Capillare und zum Teil dichtgelagerten Sekretgranula (S), kleinem Golgifeld (G) und chromatinarmem Kern mit Nucleolus (N). Daneben somatotrope Zelle (STH) (Fall 1). Vergr. 8600  $\times$ . b Crooke-Zelle mit dichtgelagerten Cytofilamenten (C) und einem großen pigmentierten Lipidkomplex (LP) und danebenliegenden Sekretgranula (S) sowie schmalem Kern (Fall 1). Vergr. 8150  $\times$

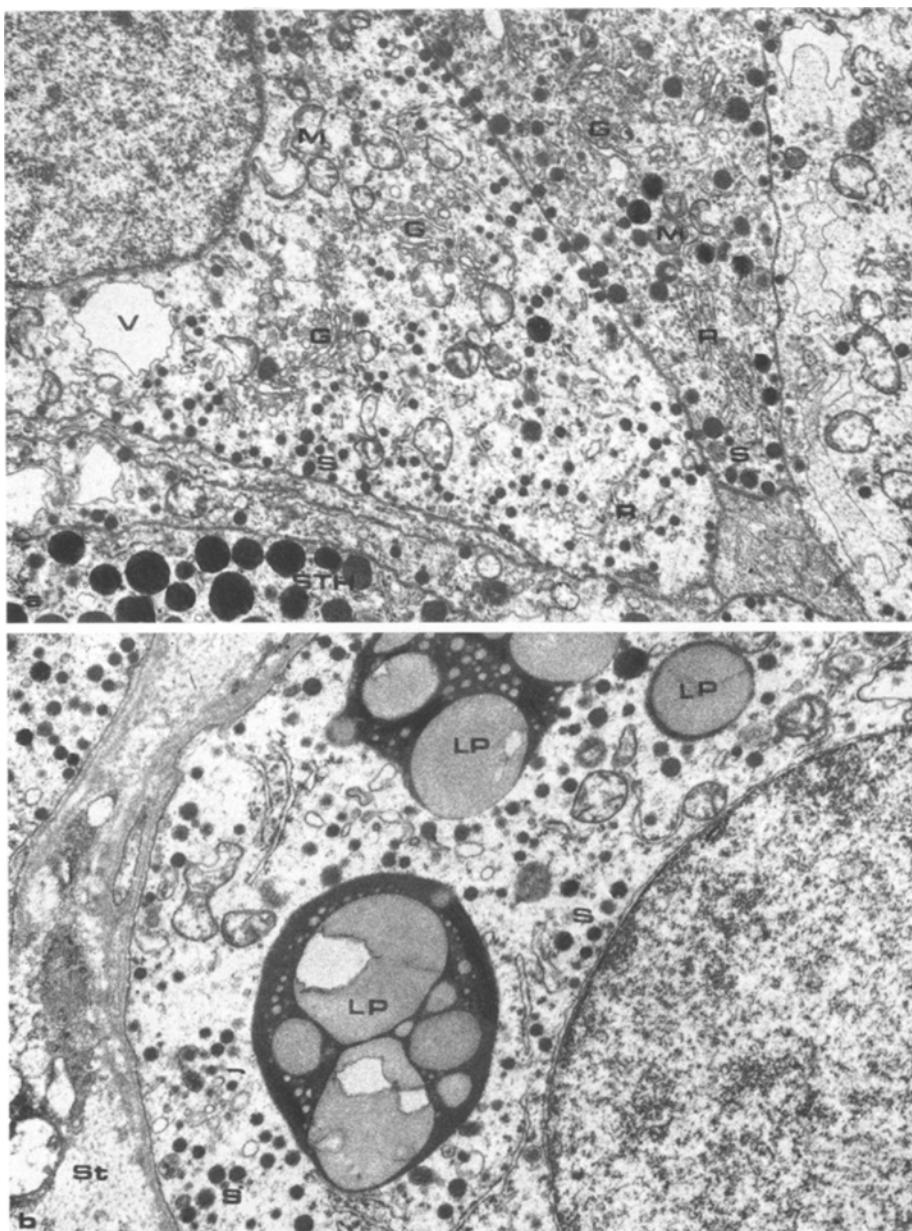


Abb. 6a u. b. ACTH-Zellen einer normalen Adenohypophyse. a Aktivere mäßig granulare in einem Follikel angeordnete Zellen mit großem Golgiefeld (G), etwas rauhem endoplasmatischen Reticulum (R), locker angeordneten Sekretgranula (S), etwas pleomorphen Mitochondrien (M) und einer Vacuole (V). Unten STH-Zelle (STH). Vergr. 8900  $\times$ . b Inaktivere Zelle mit etwas vermehrten Sekretgranula (S) und großen Lipid-Pigmentkomplexen (LP). Randlich Stroma mit Kollagenfibrillen. Vergr. 12600  $\times$

eine Zellmembran vermissen und stellen sich dadurch als mehrkernige Zellen heraus.

#### c) ACTH-Zelladenom

Das Adenom des Falles 3 war aus gleichartigen Zellen aufgebaut wie die Hyperplasien. Der Golgiapparat und die freien Ribosomen waren stärker ausgebildet (Abb. 4b). Lysosomen zeigten sich in Form einzelner großer multivesikulärer Körper. Cytofilamente lagen in kleinen Bündeln vor (Abb. 4b). Vacuolen prägten stellenweise das Cytoplasma (Abb. 4a, b). Die Sekretgranula waren bis  $400\text{ }\mu$  im Durchmesser groß. Der Chromatingehalt der Zellkerne war etwas geringer ausgeprägt als im Bereich der Hyperplasien; die Nucleolen waren jedoch deutlicher ausgebildet (Abb. 4a, b).

#### d) Crooke-Zellen

In 4 Fällen fanden sich einzelne Crooke-Zellen (Crooke, 1935) mit charakteristischer Ultrastruktur (Abb. 5b): die Sekretgranula liegen spärlich in einer unterbrochenen Reihe entlang der Zellmembran und gehäuft perinuklear, wo sie sich um Lipid-Pigmentkomplexe lagern und sich in diese aufzulösen scheinen. Ringförmig sind dicke Bündel von Cytofilamenten in zum Teil geflechtartiger Anordnung vorhanden. Die Kerne sind chromatindicht und oval bis haubenförmig gestaltet.

#### e) Weitgehend normale ACTH-Zellen

In allen Adenohypophysen waren außerdem ACTH-Zellen nachweisbar, deren Ultrastruktur keine Abweichungen von der Normalstruktur im normaktiven Zustand aufwies. Sehr wenige ACTH-Zellen waren voll granuliert (Abb. 5a).

Zum Vergleich dienten Kontrolluntersuchungen normaler Adenohypophysen, in denen wesentlich weniger und überwiegend normaktive ACTH-Zellen gefunden wurden. Einzelne ACTH-Zellen ließen aber auch durch die Ausprägung ihres Proteinbildenden Organellsystems einen aktiveren (Abb. 6a) und andere durch viele lysosomale Körper einen inaktiveren (Abb. 6b) Sekretionszustand erkennen.

### Diskussion

Bei einem Vergleich der lichtoptischen mit den elektronenmikroskopischen Befunden entsprechen die vergrößerten, ergastoplasmareicheren Zellen in der Ultrastruktur den *schwach granulierten mucoiden Zellen* der konventionellen Histologie. Die Ausprägung des proteinbildenden Organellsystems dieser Zellen läßt auf eine hohe sekretorische Aktivität schließen. Sie besitzen eine Ähnlichkeit mit den ACTH-Zellen der Rattenhypophyse nach Adrenalektomie, die durch ihre verzweigte Form und die Vermehrung und Vergrößerung des rauen endoplasmatischen Reticulum und des Golgiefeldes gekennzeichnet sind (Kurosumi und Kobayashi, 1966; Siperstein und Allison, 1965; Yamada und Yamashita, 1967; Siperstein und Miller, 1970). Auch nach Applikation des Adrenostaticum Metyrapon (Metopiron<sup>®</sup>) konnten vergleichbare Ergebnisse erzielt werden (Schechter, 1969). Bei den von uns beschriebenen ACTH-Zellen mit ihren Hinweisen für eine hohe hormonelle Aktivität kann angenommen werden, daß sie im morphologischen

Substrat Ausdruck der verstärkten Stimulierung durch das hypothalamische CRF sind.

Die Komplexe dichtgelagerter kleiner, zum Teil mehrkerniger ACTH-Zellen in der Elektronenmikroskopie sind identisch mit den *Hyperplasien* in der Lichtmikroskopie. Bei ihnen standen nicht die Prominenz des proteinbildenden Systems im Vordergrund, sondern die gelappten chromatinreichen Zellkerne und die teilweise vergrößerten Sekretgranula. Vergleichbare Befunde erhob Hachmeister (1972) an hyperplastischen Prolactinzellen der menschlichen Hypophyse beim Zustand nach Oestrogentherapie. Von normalen menschlichen jugendlichen, in Differenzierung begriffenen ACTH-Zellen (Fukuda, 1973) unterscheiden sie sich durch den hohen Gehalt an Granula. Ausschleusungsvorgänge an der Zellmembran deuten darauf hin, daß diese hyperplastischen Zellen Hormon abgeben.

Das *ACTH-Zelladenom* bestand aus nahezu ausdifferenzierten ACTH-Zellen mit Zeichen einer sekretorisch-hormonalen Aktivität. Die Sekretgranula waren etwas anisomorph. Generell gleichartige Ergebnisse lieferten die Untersuchungen weiterer Einzelfälle (Foncin und LeBeau, 1963; Fukumitsu, 1964; LeBeau und Foncin, 1967; Bergland und Torack, 1969; Olivier *et al.*, 1972).

Bei einem Vergleich mit der Ultrastruktur der ACTH-Zelladenome, die sich beim Cushing-Syndrom mit bilateraler Nebennierenrindenhyperplasie erst nach der Adrenalektomie entwickelten, stellt sich anhand eigener, bereits früher mitgeteilter Befunde (Saeger, 1973) sowie von Angaben aus der Literatur (Hachmeister *et al.*, 1971) eine sehr deutliche Ähnlichkeit heraus. Lediglich der Gehalt an granulärem endoplasmatischem Reticulum ist bei diesen Nelson-Adenomen (Nelson *et al.*, 1958) größer, was als möglicher Hinweis für eine noch stärkere endokrine Aktivität dieser Nelsontumoren zu werten ist. Die Ultrastruktur der *Crooke-Zellen*, die als supprimierte ACTH-Zellen bei Hypercortisolismus gelten, entsprach völlig den in der Literatur mitgeteilten Befunden (Wågermark und Wersäll, 1968; Schochet *et al.*, 1972; deCicco *et al.*, 1972). Ihre Bedeutung ist in unseren Fällen schwer abzuklären. Da alle ACTH-Zellen des Vorderlappens gleichermaßen unter dem stimulierenden Einfluß des CRF stehen, erscheint es unmöglich, daß einzelne ACTH-Zellen Anzeichen einer Inaktivierung aufweisen, wie sie durch die Crooke-Zellen gegeben sind. Nur wenn sich ein in funktioneller Hinsicht autonomes Adenom entwickelt hätte, wären Crooke-Zellen im nicht blastomatösen restlichen Vorderlappengewebe — wie von Kracht *et al.* (1966) beobachtet — durch einen negativen Rückkoppelungsmechanismus erklärbar. Ein derartiges solitäres, gut abgrenzbares Adenom lag in unseren Fällen aber nicht vor. Daß die prä- und intraoperativ applizierten Cortisondosen von etwa 100 mg den durch die Grundkrankheit ohnehin stark erhöhten Plasmacortisolspiegel so erheblich verstärken, daß Crooke-Zellen auftreten, erscheint unwahrscheinlich, weil erst längere Behandlungszeiten zu einer intracytoplasmatischen Hyalinisierung führen (deCicco *et al.*, 1972). Eine Anreicherung von Sekretgranula, wie sie in einigen Zellen nachweisbar war, ist jedoch durch diese Cortisoldosen denkbar, da auch in der Adrenalektomiezelle der Rattenhypophyse bei Cortisolsubstitution bereits nach Stunden eine Granulaanreicherung eintritt (Siperstein und Miller, 1970). Montandon (1957) fand Übergangsformen zwischen aktiven granulaarmen und hyalinisierten ACTH-Zellen und folgerte, daß sie ineinander übergehen können. Wenn demnach die Crookeschen Hyalinisierungen

reversible Veränderungen sind, kann es sich nicht um degenerierende oder absterbende Zellformen handeln. — Die Ätiologie und Bedeutung der Crooke-Zellen in unseren Fällen läßt sich somit nicht sicher klären.

*Zusammenfassend* ist festzustellen, daß der durch die verstärkte hypothalamische Stimulation erhöhte ACTH-Spiegel unserer Cushing-Fälle bestimmte morphologische Grundlagen besitzt: Die ACTH-Zellen sind vermehrt. Ein großer Teil von ihnen ist vergrößert und granulaarm; ihre Ultrastruktur weist auf eine erhöhte sekretorische Aktivität hin. Außerdem fanden sich multiple ACTH-Zellhyperplasien mit den entsprechenden ultrastrukturellen Merkmalen einer erhöhten Wachstumsrate. Das eine ACTH-Zelladenom besaß so große Ähnlichkeit mit den sog. Nelson-Adenomen, daß die Schlußfolgerung naheliegt, beides seien unterschiedliche Entwicklungsstadien des gleichen Tumors, wobei die Adrenalectomie die Entstehung bzw. das Wachstum bereits bestehender Adenome fördert.

Für die sorgfältige und wertvolle technische Mitarbeit haben wir Frau E. Grabow, Fr. B. Dotzauer und Fr. C. Drescher vielmals zu danken.

### 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)
- Bauer, J.: The so-called Cushing's syndrome, its history, terminology and differential diagnosis. *Acta med. scand.* **137**, 411—416 (1950)
- Bergland, R. M., Torack, R. M.: An ultrastructural study of follicular cells in the human anterior pituitary. *Amer. J. Path.* **57**, 273—297 (1969)
- Büngeler, W.: Die Definition der Geschwulstbegriffe und die Abgrenzung der Hyperplasien gegenüber den Geschwülsten. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **35**, 10—28 (1951)
- Cassidy, C. E.: Cushing's disease caused by pituitary chromophobe adenomas in two patients. *Metabolism* **9**, 1139—1151 (1960)
- Crooke, A. C.: A change in the basophil cells of the pituitary gland common to conditions which exhibit the syndrome attributed to basophil adenoma. *J. Path. Bact.* **41**, 339—349 (1935)
- Crooke, A. C., Russell, D. S.: The pituitary gland in Addison's disease. *J. Path. Bact.* **40**, 255—283 (1935)
- Cushing, H.: The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **30**, 137—195 (1932)
- De Cicco, F. A., Dekker, A., Yunis, E. J.: Fine structure of Crooke's hyaline change in the human pituitary gland. *Arch. Path.* **94**, 65—70 (1972)
- Dingman, J. F., Lim, N. Y.: Cushing's syndrome due to an ACTH-secreting chromophobe adenoma. *New Engl. J. Med.* **267**, 696—699 (1962)
- Farquhar, M. G.: "Corticotrophs" of the rat adenohypophysis as revealed by electron microscopy. *Anat. Rec.* **127**, 291 (1957)
- Fawcett, D. W., Long, J. A., Jones, A. L.: The ultrastructure of endocrine glands. *Recent Progr. Hormone Res.* **25**, 315—368 (1969)
- Foncin, J. F., Le Beau, J.: Etude en microscopie optique et électronique d'une tumeur hypophysaire à fonction adrenocorticotrope. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **157**, 249—252 (1963)
- Fukuda, T.: Agranular stellate cells (so-called follicular cells) in human fetal and adult adenohypophysis and in pituitary adenoma. *Virchows Arch. Abt. A* **359**, 19—30 (1973)
- Fukumitsu, T.: Electron microscopic study of human pituitary adenomas. *Arch. jap. chir.* **33**, 329—349 (1964)
- Hachmeister, U.: Hyperplasie von Prolactinzellen nach Oestrogentherapie beim Prostatacarcinom. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **56**, 535—539 (1972)
- Hachmeister, U., Wiegmann, W., Solbach, H. G.: Ultrastructure and hormone distribution of the human corticotrophic anterior pituitary cell under normal conditions, in cortico-

- trophic adenoma and in exogenous hypercortisolism. *Acta endocr. (Kbh.)* **66**, Suppl. 152, 90 (1971)
- Hardy, J.: Microneurosurgery of the hypophysis: a subnasal transsphenoidal approach with television magnification and televised radiofluoroscopic control. In: *Microneurosurgery*, ed. by Rand, R. W., p. 87—103. St. Louis: C. V. Mosby Co. 1969
- Herlant, M.: The cells of adenohypophysis and their functional significance. *Int. Rev. Cytol.* **17**, 299—382 (1964)
- Jores, A.: Über Hormonuntersuchungen bei Morbus Cushing. *Klin. Wschr.* **14**, 1348—1351 (1935)
- Kautzky, R., Lüdecke, D.: Erfahrungen mit dem transsphenoidalem Zugang zur Hypophyse. *Proc. German Soc. Neurosurg. (Excerpta Med.)* (1973) (im Druck)
- Kracht, J.: Das Hypophysen-Nebennierenrinden-System bei Cushing-Syndrom. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **47**, 280—284 (1963)
- Kracht, J., Hachmeister, U.: Hormonbildungsstätten im Hypophysenvorderlappen des Menschen. In: *Oestrogene, Hypophysentumoren*, 15. *Sympos. Dtsch. Ges. Endocrin.* hrsg. von Kracht, J., S. 200—205. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969
- Kracht, J., Hachmeister, U., Breustedt, H. J., Zimmermann, H. D.: Immunhistologische Hormonlokalisation im Hypophysenvorderlappen des Menschen. *Mat. Medica Nordmark* **19**, 224—238 (1967)
- Kracht, J., Tamm, J.: Invasiv gewachsene basophiles Adenom des Hypophysenvorderlappens bei Cushing-Syndrom. *Acta endocr. (Kbh.)* **43**, 330—344 (1963)
- Kracht, J., Zimmermann, H. D., Hachmeister, U.: Immunhistologischer ACTH-Nachweis in einem R-Zellen-Adenom des Hypophysenvorderlappens bei M. Cushing. *Virchows Arch. path. Anat.* **340**, 270—275 (1966)
- Kurosumi, K.: Functional classification of cell types of the anterior pituitary gland accomplished by electron microscopy. *Arch. histol. jap.* **29**, 329—362 (1968)
- Kurosumi, K., Kobayashi, K.: Corticotrophs in the anterior pituitary glands of normal and adrenalectomized rats as revealed by electron microscopy. *Endocrinology* **78**, 745—758 (1966)
- Kurosumi, K., Oota, Y.: Corticotrophs in the anterior pituitary glands of gonadectomized and thyroidectomized rats as revealed by electron microscopy. *Endocrinology* **79**, 808—814 (1966)
- Lawzewitsch, I. von, Dickmann, G. H., Amezua, L., Pardal, C.: Cytological and ultrastructural characterization of the human pituitary. *Acta anat. (Basel)* **81**, 286—316 (1972)
- LeBeau, J., Foncin, J. F.: A propos de tumeurs hypophysaires dites chromophobes. *Soc. Med. Hopital Paris* **118**, 499—501 (1967)
- Liddle, G. W., Island, D., Meador, C. K.: Normal and abnormal regulation of corticotropin secretion in man. *Recent Progr. Hormone Res.* **18**, 125—166 (1962)
- Marguth, F.: Das hypophysäre Cushing-Syndrom. 11. *Sympos. Dtsch. Ges. Endokrin.* In: *Wachstumshormon und Wachstumsstörungen. Das Cushing-Syndrom*. Hrsg. von Klein, E., S. 125—133. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965
- Marks, V.: Cushing's syndrome occurring with pituitary chromophobe tumours. *Acta endocr. (Kbh.)* **32**, 527—535 (1959)
- Montandon, A.: Quantitative und qualitative Zellveränderungen im Hypophysenvorderlappen bei therapeutischem Hypercorticismus. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 629—650 (1957)
- Müller, W., Tzonos, T.: Beitrag zur Klinik und Morphologie der Hypophysenadenome. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **191**, 97—124 (1967)
- Nakayama, I., Skelton, F. R.: Observations on the fine structure of ACTH producing cells in the rat anterior pituitary. *Fed. Proc.* **27**, 548 (1968)
- Nelson, D. H., Meakin, J. F., Dealy, J. W., Matson, D. D., Emerson, K., Thorn, G. W.: ACTH-producing tumor of the pituitary gland. *New Engl. J. Med.* **259**, 161—164 (1958)
- Nelson, D. H., Sprunt, J. G., Mims, R. B.: Plasma ACTH determinations in 58 patients before and after adrenalectomy for Cushing's syndrome. *J. clin. Endocr.* **26**, 722—728 (1966)
- Ney, R. L., Shimizu, N., Nickolson, W. E., Island, D. P., Liddle, G. W.: Correlation of plasma ACTH concentration with adrenocortical response in normal human subjects, surgical patients, and patients with Cushing's disease. *J. clin. Invest.* **42**, 1669—1677 (1963)

- Olivier, L., Vila-Porcile, E., Peillon, F., Racadot, J.: Etude en microscopie électronique des grains de sécrétion "basophiles" dans les cellules hypophysaires tumorales de la maladie de Cushing. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **166**, 1591—1597 (1972)
- Orthner, H., Anton, U., Bachmann, R., Graumann, K., Hinrichsen, K., Schoen, H.: Pathologische Anatomie der neuroendokrinen Erkrankungen. II. Zur Cushing'schen Krankheit. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **179**, 145—199 (1959)
- Pearse, A. G. E., Noorden, S. van: The functional cytology of the human adenohypophysis. *Canad. med. Ass. J.* **88**, 463—471 (1963)
- Pelletier, G.: Détection des glycoprotéines dans les cellules corticotropes de l'hypophyse du rat. *J. Microscopie* **11**, 327—330 (1971)
- Pelletier, G., Racadot, J.: Identification des cellules hypophysaires sécrétant l'ACTH chez le rat. *Z. Zellforsch.* **116**, 228—239 (1971)
- Plotz, C. M., Knowlton, A. I., Ragan, C.: The natural history of Cushing's syndrome. *Amer. J. Med.* **13**, 597—614 (1952)
- Rennels, E. G.: Electron microscopic alterations in the rat hypophysis after scalding. *Amer. J. Anat.* **114**, 71—91 (1964)
- Retiene, K., Espinoza, A., Marx, K. H., Pfeiffer, E. F.: Über das Verhalten von ACTH und Cortisol im Blut von Normalen und Kranken mit primärer und sekundärer Störung der Nebennierenrindenfunktion. I. Nachweis der vermehrten ACTH-Sekretion beim Morbus Cushing. *Klin. Wschr.* **43**, 205—211 (1965)
- Rovit, R. L., Berry, R.: Cushing's syndrome and the hypophysis. A re-evaluation of pituitary tumors and hyperadrenalinism. *J. Neurosurg.* **23**, 270—295 (1965)
- Rovit, R. L., Duane, T. D.: Cushing's syndrome and pituitary tumors. Pathophysiology and ocular manifestations of the ACTH-secreting pituitary adenomas. *Amer. J. Med.* **46**, 416—427 (1969)
- Saeger, W.: Zur Ultrastruktur der Hypophysenadenome beim Cushing-Syndrom nach Adrenalektomie. *Virchows Arch. Abt. A* **361**, 39—50 (1973)
- Salassa, R. M., Kearns, T. P., Kernohan, J. W., Sprague, R. G., McCarty, C. S.: Pituitary tumors in patients with Cushing's syndrome. *J. clin. Endocr.* **19**, 1523—1539 (1959)
- Schechter, J.: The ultrastructure of the stellate cell in the rabbit pars distalis, *Amer. J. Anat.* **126**, 477—488 (1969)
- Schochet, S. S., Halmi, N. S., McCormick, W. F.: PAS-positive hyaline change in ACTH-MSH cells of man. *Arch. Path.* **93**, 457—463 (1972)
- Siperstein, E. R., Allison, V. F.: Fine structure of the cell responsible for secretion of adrenocorticotrophin in the adrenalectomized rat. *Endocrinology* **76**, 70—79 (1965)
- Siperstein, E. R., Miller, K. J.: Further cytophysiologic evidence for the identity of the cells that produce adrenocorticotrophic hormone. *Endocrinology* **86**, 451—486 (1970)
- Tamm, J.: Zur Pathogenese des Cushing-Syndroms infolge bilateralen Nebennierenrinden-Hyperplasie. *Dtsch. med. Wschr.* **86**, 1874—1878 (1961)
- Urban, H.: Ein Fall von „Basophilismus“ (Morbus Cushing). *Wien. klin. Wschr.* **50**, 1122—1126 (1937)
- Wägermark, J., Wersäll, J.: Ultrastructural features of Crooke's changes in pituitary basophil cells. *Acta path. microbiol. scand.* **72**, 367—371 (1968)
- Yamada, K., Yamashita, K.: An electron microscopic study on the possible site of production of ACTH in the anterior pituitary of mice. *Z. Zellforsch.* **80**, 29—43 (1967)
- Zimmermann, H. D., Kracht, J.: Der Hypophysenvorderlappen des Menschen bei Hypercortisolismus. In: *Wachstumshormon und Wachstumsstörungen. Cushing-Syndrom.* Hrsg. von Klein, E., S. 180—184. 11. Sympos. Dtsch. Ges. Endokr. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965

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