

## Ultrastrukturelle Pathologie als Weg zur Erfassung der Zelldynamik\*

Von H. ROHR

Pathologisches Institut der Universität, 4051 Basel (Schweiz)

Vor 303 Jahren beschrieb ROBERT HOOKE in seinem Buch «Micrographia» erstmals den Aufbau von Geweben aus gleichartigen Zellen. Tatsächlich erblickte man bis vor etwa zwei Jahrzehnten in der Zelle die einfachste morphologisch eindeutig nachweisbare Funktionseinheit. Die Einführung der Elektronenmikroskopie gestattete es jedoch, innerhalb der Zelle selbst noch kleinere Struktureinheiten, die sog. Zellorganellen, nachzuweisen. Diese Zellorganellen bilden, wie wir heute wissen, Funktionseinheiten und lassen uns mehr und mehr, besonders mit der Einführung moderner Methoden der Zellforschung, komplexe Ordnungsprinzipien erkennen, die in vielfältiger gegenseitiger Beziehung zueinander stehen. Diese heute wenigstens in ihren Umrissen erkennbaren intrazellulären Ordnungsprinzipien garantieren das vielschichtige Zusammenspiel und die oft sehr komplizierten Gleichgewichte der zahllosen einzelnen Stoffwechselprozesse. Die Zellorganellen bilden somit gewissermassen das morphologische Rückgrat der Dynamik der Zelle.

Mit der raschen Entwicklung der Ultrastrukturforschung ist das Ansehen der Morphologie in einem neuen Sinne wieder aufgewertet worden. Die Morphologie tritt heute mehr und mehr in ein enges Partnerverhältnis zu den anderen naturwissenschaftlichen Disziplinen. Damit lässt sich die bisher meist noch scharfe Abtrennung der Morphologie von Disziplinen wie etwa der Physiologie und der Biochemie heute oft nur noch schwer vollziehen.

Das wesentliche Strukturelement der ultrastrukturellen Forschung bildet die Zelle. 1838 beschrieb SCHLEIDEN die Pflanzenzelle und ein Jahr später THEODOR SCHWANN die tierische Zelle. Beide Forscher unterschieden bereits damals als Hauptbestandteile der Zelle die Zellmembran, den Zellkern, einen flüssigen Inhalt sowie eine besondere körnerführende Substanz, die höchst eigentümliche Bewegungen ausführen könne. Diese Substanz wurde von dem Botaniker HUGO VON MOHL Protoplasma benannt. Die Lehre von der Zelle hingegen als einer wesentlichen Struktureinheit wurde von ERNST BRÜCKE, einem Schüler von JOHANNES MÜLLER, erstmals in ihren Umrissen formuliert und weiter entwickelt. BRÜCKE schreibt: «Ich nenne die

Zellen Elementarorganismen in dem Sinne, wie wir die Körper, die bis jetzt noch nicht zerlegt worden sind, Elemente nennen.» Doch BRÜCKE war vorsichtig und fügte hinzu: «So wenig die Unzerlegbarkeit der Elemente bewiesen ist, so wenig können wir die Möglichkeit in Abrede stellen, dass nicht vielleicht die Zellen selbst noch wiederum aus anderen, noch kleineren Organismen zusammengesetzt sind, welche zu ihnen in einem ähnlichen Verhältnisse stehen wie die Zellen selbst zum Gesamtorganismus; aber wir haben bis jetzt keinen Grund, dies anzunehmen.» BRÜCKE betrachtete die Zelle als einen kleinen Tierleib und vermutete, dass der Zellinhalt höchst kunstvoll aufgebaut sei. Trotzdem zögerte BRÜCKE, indem er schrieb: «Wenn man uns fragt, ob wir, die wir den Zellinhalt nicht als Flüssigkeit anerkennen, etwa glauben, dass er fest sei, so antworten wir: nein. Und wenn wir gefragt werden, ob er denn flüssig sei, so antworten wir wieder: nein.» BRÜCKE wagte somit in kühner Voraussicht, in dem sich lichtmikroskopisch homogen darbietenden Zelleib eine hochdifferenzierte Organisation zu vermuten. Wenig später, 1858, hat VIRCHOW gefordert, die Zelle in den Mittelpunkt der morphologischen Betrachtungsweise zu rücken. VIRCHOW schrieb: «Jedes Tier, beziehungsweise jedes Organ ist eine Summe vitaler Einheiten, von denen jede den Charakter des Lebens in sich trägt... eine Art von gesellschaftlicher Einrichtung, ein Organismus sozialer Art, wo eine Masse von einzelnen Existenzien aufeinander angewiesen ist. So ist es denn gewiss keine unbillige Forderung, dass dem grösseren, wirklich existierenden Teil des Körpers, dem dritten Stande, das heisst der Zelle, auch eine gewisse Anerkennung zugestanden werde. Auf jeden Fall scheint es mir notwendig zu sein, dieser spezifischen Aktion der Elemente, das heisst der Zellen, gegenüber der spezifischen Aktion der Gefäße, eine überwiegende Bedeutung beizulegen und das Studium der lokalen Prozesse seinem wesentlichen Teile nach auf die Erforschung dieser Art von Vorgängen zu richten.» VIRCHOW bezeichnete seine Lehre von der Zellularpathologie, die

\* Antrittsvorlesung, Basel, 23. Januar 1969.

im Grunde auf der Erkenntnis einer unlösbarer Verbindung von Kern und Protoplasma zu einer Struktur- und Funktionseinheit beruht, als eine «neue Ordnung», und betonte selbst, dass ihm nichts ferner liegen würde, als die Begründung eines Systems. So schrieb VIRCHOW: «Zu allen Zeiten sind der Entwicklung der Medizin hauptsächlich zwei Hindernisse entgegengetreten, die Autoritäten und die Systeme.»

Diese gewissermassen «demokratisch» betonte morphologische Betrachtungsweise, die Begründung der Zellbiologie und der Zellularpathologie durch VIRCHOW, hat eine völlige Neuorientierung der medizinischen Wissenschaften und sehr rasch eine Vielzahl fruchtbare Ergebnisse gezeitigt, obgleich sie, wie jedes neue Dogma, zu Einseitigkeiten führte, indem sie vergessen liess, dass der menschliche Organismus, beziehungsweise das Organ in gewissem Sinne auch wieder streng hierarchisch organisiert ist. Jedenfalls hat VIRCHOW mit seiner neuen, revolutionierenden Betrachtungsweise damals eine Entwicklung eingeleitet, die auch heute noch unvermindert nachwirkt und in keiner Weise als abgeschlossen betrachtet werden darf.

Der bereits von BRÜCKE vermutete kunstvolle Aufbau der Zelle kann heute durch die zahlreichen elektronenmikroskopischen Untersuchungen vollauf bestätigt werden. Dabei bilden die Zellorganellen das ultrastrukturelle Äquivalent für biochemisch teilweise gut bekannte Funktionskreise; sie stellen morphologisch meist eindeutig umschriebene Zellbezirke innerhalb der Zelle dar, die wir Kompartimente nennen. Diese Kompartimentierung bildet ein intrazelluläres Bauprinzip, welches die Aufrechterhaltung der vielfältigen und oft sehr komplexen Zellfunktionen garantiert. Das ordnende Grundelement dieser Kompartimentierung bildet die Membran. Die vielgestaltigen Zellorganellen mit ihren mannigfachen Funktionen ordnen sich zur Zelle, welcher gleichfalls eine oder meist mehrere spezifische Funktionen zukommen. Diese Zellen ordnen sich zum Zellverband, beziehungsweise zum Organ, und diese hinwiederum ordnen sich zum Organismus. Mit anderen Worten: Den verschiedenen Organen im Organismus entsprechen in gewissem Sinne die Zellen im Organ, vor allem aber auch die verschiedenen Zellorganellen in der Zelle. Dabei wird, wie wir noch sehen werden, unter anderem ein Prinzip weitgehender Autonomie gewahrt. Die Tatsache, dass die Zelle die kleinste autonom lebensfähige Einheit darstellt, führt uns zu der berechtigten Annahme, dass in jeder Zelle im Prinzip ein analoges Wirkungsgefüge von Stoffwechselabläufen vorliegen muss, welches das Leben dieser Grundeinheit ermöglicht. Diese Annahme erlaubt es uns, von einem Grundplan der Organisation der Zelle, gewissermassen von einem Archetyp der Zelle zu sprechen. Dabei lässt dieser Bauplan, soweit wir dies heute zu überschauen vermögen, im Prinzip anabole, das heisst aufbauende, und katabole, das heisst abbauende Funktionskreise oder Ordnungsprinzipien erkennen. Beson-

ders die mit anabolen Zellfunktionen verknüpften Zellorganellen lassen, wie wir noch sehen werden, eine hierarchische Ordnung erkennen. Sämtlichen Zellorganellen der beiden «Funktionskreise» übergeordnet ist der Zellkern, der Träger der sogenannten Desoxyribonukleinsäure oder abgekürzt der DNS, das heisst der Träger der genetischen Informationen, sowie der sogenannten Ribonukleinsäure, der RNS, der Botenstoffe, welche unter anderem die notwendigen Verbindungen mit den zytoplasmatischen Zellorganellen garantieren.

Betrachten wir nun zunächst einmal die mit anabolen Zellfunktionen verknüpften Zellorganellen. Unter anabolen Aufgaben der Zelle verstehen wir unter anderem die Bereitstellung von Syntheseprodukten, wie zum Beispiel Sekreten, oder etwa die Synthesevorgänge, die zur Bildung von Fermenten führen. Ein elektronenmikroskopisches Bild einer sogenannten Brunnerschen Drüse aus dem Zwölffingerdarm zeigt zunächst die von PALADE 1955 entdeckten sogenannten Ribosomen, die sich an Membranen zum rauhen endoplasmatischen Retikulum oder Ergastoplasma ordnen. Ferner erkennen wir das Golgfeld, das sich aus drei Anteilen aufbaut, den Golgivesikeln, den Golgivakuolen und den Golgilamellen, sowie Sekretgranula, Mitochondrien und schliesslich ein Lysosom (Figur 1).

Dem intrazellulären katabolen Ordnungsprinzip entsprechen im wesentlichen die ausserordentlich vielfältigen Lysosomen, die 1956 von DE DUVE und seinen Mitarbeitern biochemisch erstmals charakterisiert werden konnten. Die Lysosomen bilden, vereinfacht ausgedrückt, gewissermassen den Verdauungs- trakt der Zelle. Das Leitzyklus dieser Zellorganelle, welches uns auch ihre morphologische Identifizierung erlaubt, bildet, wie wir heute wissen, die histochemisch auch ultrastrukturell darstellbare saure Phosphatase. Den Lysosomen kommt, wie wir noch sehen werden, besonders in der ultrastrukturellen Pathologie eine zentrale Bedeutung zu.

Zur Aufrechterhaltung der vielfältigen, hier lediglich skizzierten Zellfunktionen benötigt jede Zelle Energie. Der Energiebedarf bildet geradezu eines der Kriterien der lebendigen Substanz. Unerlässliche Energiequelle für sämtliche Zellfunktionen stellt das sogenannte Adenosintriphosphat, die ATP, dar, welche bei der Verbrennung von Glukose mit Sauerstoff entsteht. Diese ATP ist in den Mitochondrien lokalisiert. Die Mitochondrien ermöglichen daher nicht nur die Aufrechterhaltung der Funktionen der beiden von- einander grundsätzlich verschiedenen Zellfunktions- typen, sondern sie garantieren schliesslich auch die Aufrechterhaltung der Kompartimentierung und somit ganz allgemein die Ordnung innerhalb der Zelle. Die Mitochondrien lassen sich keinem der beiden angeführten Ordnungsprinzipien zuordnen, deshalb kommt ihnen innerhalb der Zelle eine gewisse Autonomie zu, die sich unter anderem auch darin äussert, dass in den

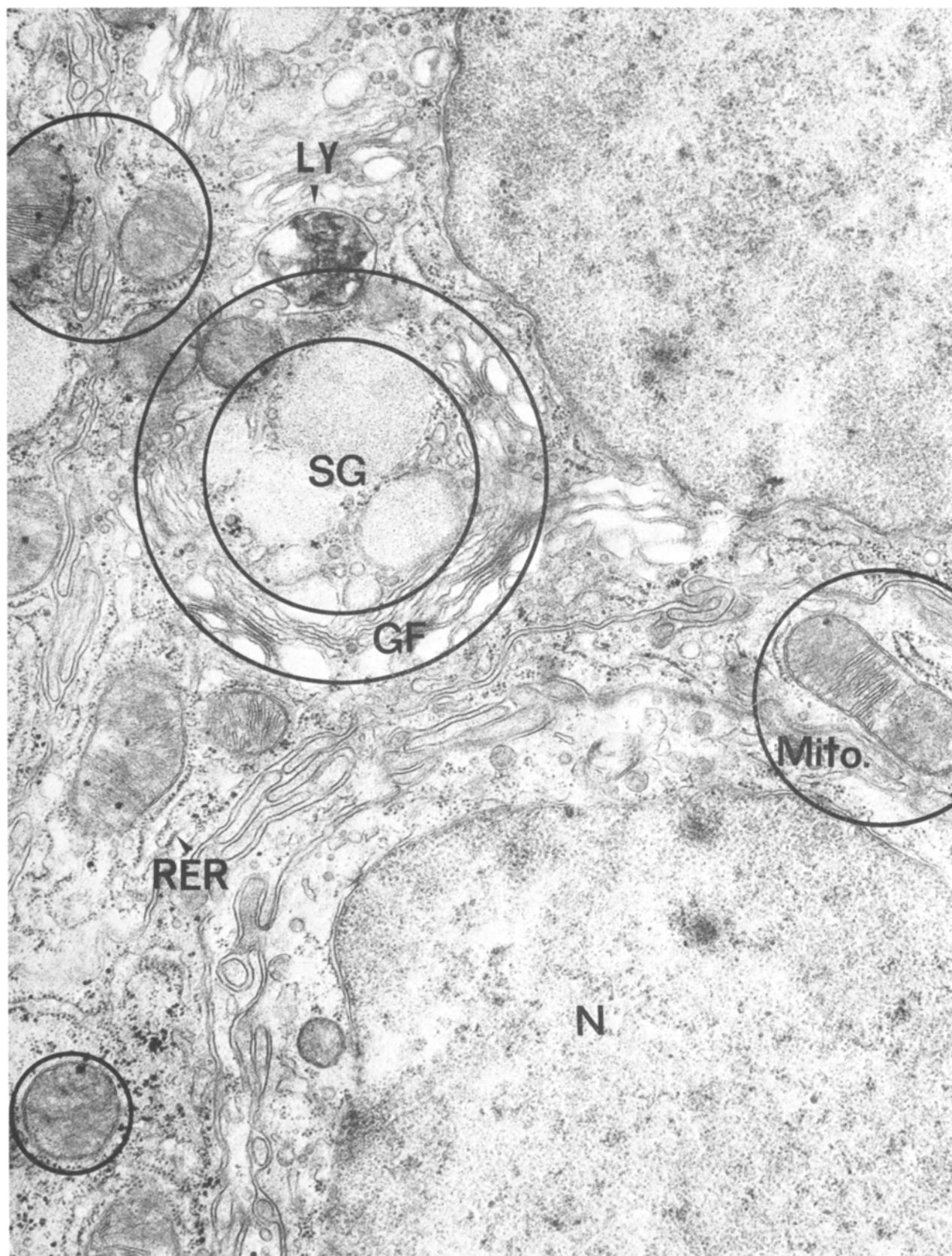


Fig. 1. Elektronenmikroskopische Detailaufnahme einer Brunnerschen Drüse des Duodenums der Maus. N, Zellkern; RER, rauhes endoplasmatisches Retikulum; SG, Sekretgranula; GF, Golgiefeld (Golgivesikel, Golgivakuolen, Golgilamellen); LY, Lysosom.  $\times 22000$ .

Mitochondrien das Vorhandensein von Desoxyribonukleinsäure, von DNS, nachgewiesen werden konnte. Diese mitochondriale DNS bildet somit aller Wahrscheinlichkeit nach ein Äquivalent der oft diskutierten zytoplasmatischen Gensubstanz.

Eine solche rein beschreibende, gewissermassen statische Betrachtungsweise der Zelle, lässt uns sehr leicht die hohe Plastizität und Dynamik dieser hochdifferenzierten inneren Zellordnung vergessen. Denn neben den Grundkompartimenten selbst, den Bauelementen der Zelle, nämlich den Zellorganellen, mit ihren nur teilweise geklärten Funktionen, müssen nun auch ihre gegenseitigen Wechselbeziehungen sowie ihre Beziehungen zur Umwelt berücksichtigt werden. Hier gelangen wir rasch an die Grenzen einer rein morphologisch-statischen Betrachtungsweise. So kann beispielsweise rein morphologisch die Herkunft eines Bläschen, welches sich dicht unter der Zellmembran befindet, nicht ermittelt werden, das heisst es kann nicht entschieden werden, ob dieses Bläschen aus der Zelle ausgestossen wird, oder ob es sich im Sinne einer sogenannten Pinozytose – nämlich der Flüssigkeitsaufnahme in Form von Bläschen – nach Abschnürung von der Zellmembran gegen das Zellinnere hin bewegt (Figur 2).

Wir sehen somit, dass der viel benutzte Begriff einer Architektur der Zelle im statischen Sinne nur noch schwer und bedingt anwendbar ist. Die klassischen Strukturbegriffe erweisen sich als überholt, da sie den mannigfachen Aspekten der Zelldynamik, wie etwa der Stoffaufnahme, oder den Synthesevorgängen, nicht oder nur in unzureichender Weise Rechnung tragen. Daraus ergibt sich fast zwangsläufig die Notwendigkeit, bei ultrastrukturellen Analysen der Zelle die funktionellen Aspekte der Zelldynamik in den Vordergrund der Betrachtung zu rücken.

Überraschenderweise hat bereits 1914 LUDWIG ASCHOFF in dem folgenden, oft zitierten programma-

tischen Satze die Aufgaben einer modernen Morphologie, wie sie sich aus den zahlreichen Hinweisen für eine dynamische Ordnung ergeben, scharf umrissen. ASCHOFF schreibt: «Uns ist die Struktur nichts Totes, sondern ein biologisches System, dessen Änderung in Beziehung zur geänderten Funktion zu studieren und damit auch seine funktionelle Analyse, Gegenstand unserer Arbeit ist.» Tatsächlich gelang es ASCHOFF und seinen Schülern, bedeutende funktionelle Systeme im Organismus aufzudecken. Dabei handelt es sich beispielsweise um die Erkennung spezialisierter Zellstrukturen innerhalb eines Gewebes, wie etwa das Reizleitungssystem des Herzens, oder um Zellpopulationen, die funktionell eine Gemeinschaft bilden, obwohl sie räumlich voneinander getrennt sind, wie etwa das retikuloendotheliale System (RES). Ein weiteres funktionelles System im Sinne ASCHOFFS bildet schliesslich auch das von BARGMANN erstmals beschriebene Zwischenhirn-Hypophysensystem, das eng mit der Neurosekretion verknüpft ist.

Struktur und Funktion dürfen und können heute nicht mehr gesondert analysiert werden. Struktur und Funktion sind in nicht trennbarer Weise miteinander verknüpft. Der Tatsache einer solchen Verknüpfung muss bei jeder modernen morphologischen Betrachtungsweise in besonderem Masse Rechnung getragen werden. Im Mittelpunkt einer solchen Betrachtungsweise zur Klärung der Beziehungen der Bausteine der Zelle zueinander und zur gegenseitigen Abgrenzung der bisher erst in ihren Umrissen bekannten Ordnungsprinzipien steht das Experiment. Die eigentlichen Grundregeln der experimentell naturwissenschaftlichen Methodik wurden von CLAUDE BERNARD<sup>1</sup> in die Medizin eingeführt. Sie besitzen auch heute noch ihre volle Gültigkeit. Seine Voraussage, die Medizin werde sich mehr und mehr auf eine experimentelle Beweisführung stützen müssen, scheint sich heute weitgehend zu bewahrheiten. Die Grundlagen jeder experimentellen Beweisführung, besonders in der Medizin oder in der Pathologie, bilden jedoch nach wie vor die Empirie und die davon hergeleiteten Klassifikationen.

Die Grundlage eines jeden Experiments bildet die Wahl einer möglichst übersichtlichen Ausgangslage, oder mit anderen Worten, die Wahl eines geeigneten Versuchsmodells. Die Modelle, die wir untersuchen, stellen per definitionem immer eine grobe Vereinfachung der tatsächlichen Verhältnisse dar; sie lassen uns einen Vorgang in überdeutlicher Weise erkennen, wie dies zum Beispiel nach Schädigungen oder bei Zuständen einer gesteigerten funktionellen Beanspruchung der Fall sein kann. Nur so sind aber Modelle auch besonders aussichtsreich. Die Experimente müssen so eingerichtet werden, dass die entsprechenden Resultate möglichst eindeutig ausfallen. Dabei zeigt es sich nicht selten, dass sogar scheinbar übersichtliche Fragestellungen uns lediglich mehrdeutige Antworten zu liefern vermögen. Der Wert jedes Experiments

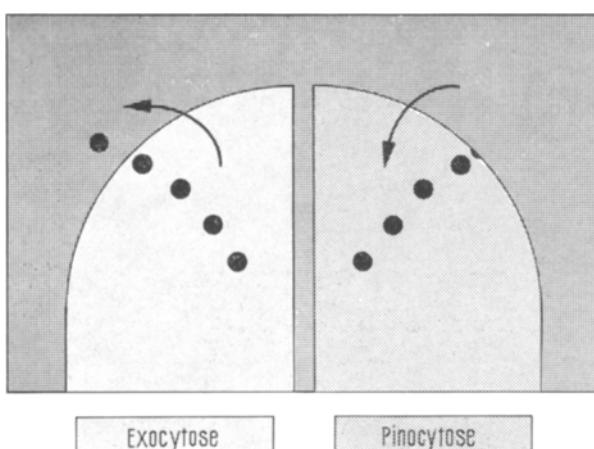


Fig. 2. Schematische Darstellung der Flüssigkeitsaufnahme in Form von Bläschen (Pinozytose) sowie der Stoffabgabe (Exozytose) durch die Zelle.

wird somit in entscheidender Weise durch die Eindeutigkeit der Fragestellung bestimmt. Die Antworten, die wir erhalten, ergeben sich somit in erster Linie aus der Art und Weise der Fragestellung. In diesem Sinne schreibt HENLE, ehemals Professor für Anatomie in Zürich, in seiner Schrift von den Miasmen und Kontagien: «Die Natur antwortet nur, wenn sie gefragt wird, oder richtiger, sie spricht beständig zu uns mit tausend Zungen, aber wir vernehmen nur die Antworten auf unsere Fragen.» In der reinen Morphologie vermögen jedoch diese Antworten einer streng naturwissenschaftlichen Beweisführung meist nicht zu genügen. Wir deuten morphologische Befunde zum Beispiel als Ausdruck von bestimmten Stoffwechselprozessen. Mit der Interpretation solcher Befunde sind jedoch diese Resultate noch keineswegs streng naturwissenschaftlich gesichert, da oft die entsprechenden biochemischen Grundlagen noch unbekannt sind; vor allem müssen wir uns aber auch immer der Tatsache bewusst bleiben, dass sehr verschiedene Stoffwechselprozesse sich morphologisch völlig identisch manifestieren können. Diese Tatsachen erschweren die Stellung des Morphologen in entscheidender Weise. Trotzdem kann unter Umständen auch rein morphologischen Befunden eine gewissermaßen biologische Beweiskraft zukommen. In diesem Zusammenhange sei lediglich an die sogenannte Sternbergsche Riesenzelle erinnert, welche uns den Morbus Hodgkin, das Lymphoma malignum Hodgkin, eine schwere Erkrankung des lymphatischen Systemes, «beweist», obwohl ein solcher Befund an sich streng naturwissenschaftlichen Kriterien nicht zu genügen vermag. Aus diesen Gründen besteht heute in der Morphologie mehr und mehr die Tendenz, solche Befunde, Interpretationen und Hypothesen durch die Einführung naturwissenschaftlich eindeutig exakter Methoden zu untermauern.

Welche Methoden stehen uns heute in der Morphologie zur Erfassung der Dynamik der Zellvorgänge und Zellfunktionen zur Verfügung? Warum ist beispielsweise die Aufzählung der mit anabolen Zellvorgängen verknüpften Zellorganellen so oft in einer bestimmten Reihenfolge berechtigt? Nämlich die Reihenfolge Zellkern, Ribosomen bzw. rauhes endoplasmatisches Retikulum, Golgifeld, Sekretgranula. Welche Methoden erlauben es uns, eine solche, wie wir sehen werden, sinnvolle Sequenz von Zellorganellen aufzustellen? Es sind dies unter anderem vor allem Methoden der Fermentdarstellung, ferner die sogenannte Morphometrie, das heißt die statistische Berechnung von Membranoberflächen und Zellorganellvolumina, sowie die Autoradiographie, das heißt die Darstellung von radioaktiv markierten Substanzen und Bausteinen im Gewebeschnitt. Diese letztere Methode hat in jüngster Zeit auch Eingang in die Ultrastrukturforschung gefunden.

Der Grundgedanke dieser noch jungen Methode, nämlich der Autoradiographie, ist an sich einfach: man fertigt von dem zu untersuchenden Gewebe, in dem

sich die radioaktiven Stoffe befinden, Gewebeschnitte an, und überschichtet diese im Prinzip mit einer Filmemulsion (Figur 3); diese Autoradiogramme werden nun während einer bestimmten Zeitspanne bei Dunkelheit exponiert, wodurch die zerfallenden Atome sich gleichsam selbst abbilden, indem sie die Silberbromidkristalle der Photoemulsion, wie bei einem gewöhnlichen photographischen Prozess latent «anregen». Sodann werden die Autoradiogramme entwickelt und fixiert. Über den Orten des radioaktiven Zerfalles lassen sich im Lichtmikroskop sogenannte Silberkörner, im Elektronenmikroskop ihre Äquivalente, die sogenannten Silberkornfilamente erkennen. Bei der Durchführung dieses Verfahrens in der Praxis treten aber besonders im elektronenmikroskopischen Bereich eine Reihe von Problemen auf – wie zum Beispiel das Problem der Herstellung dünner Filmemulsionen über dem Ultra dünn schnitt –, die an dieser Stelle nicht erörtert werden sollen. Eine der wichtigsten Forderungen bei der Herstellung von Autoradiogrammen betrifft ein optimales Auflösungsvermögen, welches einerseits bestimmt wird durch die Empfindlichkeit der Filmemulsion, andererseits durch die Wahl von geeigneten radioaktiv markierten Stoffen. Besonders geeignet für autoradiographische Untersuchungen sind die energiearmen  $\beta$ -Strahler mit ihrer geringen Reichweite.

Die autoradiographische Lokalisation bekannter Stoffe innerhalb der Zelle in Abhängigkeit von der Zeit, indem die Versuchstiere in verschiedenen Zeitpunkten nach der Injektion der Aktivität getötet werden, gestattet dem Morphologen das Studium der Zell- und Stoffkinetik und damit den Anschluss seines Arbeitsgebietes an die moderne Biochemie. Die Autoradiographie erlaubt somit eine dynamische, funktional betonte Deutung von rein morphologischen Ergebnissen und erweitert die Aussagemöglichkeiten einer funktionell betonten Zytologie in entscheidender Weise.

Dazu nun einige Beispiele: Im mikroskopischen Bereich gestattet es die Autoradiographie, zu sehr präzisen Aussagen über die Zellkinetik zu gelangen. Jeder Zellteilung geht eine Verdoppelung der Desoxyribonukleinsäure, der DNS, voraus. Injizieren wir einem Versuchstier  $^3\text{H}$ -Thymidin, das heißt mit schwerem

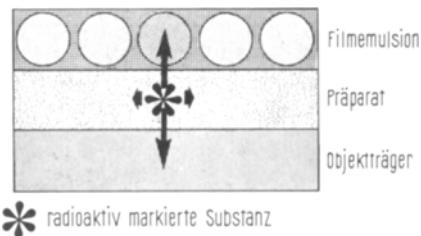


Fig. 3. Schematische Darstellung eines Autoradiogrammes (vergleiche Text).

Wasserstoff markiertes Thymidin, einen spezifischen Baustein der DNS, so werden alle diejenigen Zellen  $^3\text{H}$ -Thymidin in ihre DNS einbauen, die sich im Augenblick der Injektion und der an die Injektion anschliessenden Verfügbarkeitsdauer des  $^3\text{H}$ -Thymidins im Körper in ihrer DNS-Synthesephase befinden. Solche Zellkerne, die Träger der DNS, werden im Autoradiogramm markiert – das heisst mit Silberkörnern beladen – erscheinen. Ein Beispiel möge dies illustrieren: 40 Minuten nach der Injektion von  $^3\text{H}$ -Thymidin findet sich auf diesem lichtmikroskopischen Autoradiogramm einer Dünndarmkrypten die Thymidinaktivität über den Zellkernen der sogenannten Zellteilungs- oder Indifferenzzone, das heisst, diese Zellen synthetisieren im Augenblick der Thymidininjektion DNS und stehen somit kurz vor der Zellteilung (Figur 4). Lassen wir hingegen nach einer einmaligen  $^3\text{H}$ -Thymidininjektion die Versuchstiere 96 Stunden überleben, so können die markierten Zellkerne lediglich in Zellen an der Spitze der Darmzotten beobachtet werden (Figur 5). Mit anderen Worten, die neu gebildeten Darmepithelzellen sind in dieser Zeit gegen die Zottenspitze hin abgewandert. Die Abwanderungsgeschwindigkeit bzw. die Zellreifung solcher Zellsysteme, wie etwa auch der Haut, lässt sich mit Hilfe der Autoradiographie sehr präzise erfassen. Manche Probleme des Proliferationsmodus von blutbildendem Gewebe wie auch viele Fragen der Regeneration und der Karzinogenese, das heisst der Krebsentstehung, konnten auf diese Weise präziser erfasst und damit weiterhin geklärt werden.

Im ultrastrukturellen Bereich dient die Autoradiographie in erster Linie zur Erfassung des topographischen Ablaufes wie auch zur Bestimmung der zeitlichen Sequenz von Synthese- und Sekretionsvorgängen innerhalb einzelner Zellen bzw. einzelner Zellkompartimente. Am Beispiel der Synthese von Verdauungssäften in der

Brunnerschen Drüse des Zwölffingerdarmes sei dies kurz demonstriert. Der prinzipielle Versuchsgang bei solchen Experimenten besteht darin, dass geeigneten Versuchstieren, meist Ratten oder Mäusen, in einem Zeitpunkt 0 eine radioaktiv markierte Substanz injiziert wird. Diese Versuchstiere werden sodann in verschiedenen Zeitintervallen der autoradiographischen Analyse zugeführt. So kann kurze Zeit nach der Injektion von  $^3\text{H}$ -Leucin, einer mit schwerem Wasserstoff markierten Aminosäure, einem Baustein von Eiweisskörpern, aus denen sich unter anderem auch Fermente und Verdauungssäfte aufbauen, die Leucinaktivität über dem rauhen endoplasmatischen Retikulum beobachtet werden (Figur 6). Die Orte des radioaktiven Zerfalls kommen im Elektronenmikroskop als typische Silberkornknäuel oder Silberkornfilamente zur Darstellung. Damit konnte erstmals auch rein morphologisch bewiesen werden, dass sich die ersten Schritte der Eiweissbildung tatsächlich über den Ribosomen bzw. über dem rauhen endoplasmatischen Retikulum abspielen. Längst bekannte biochemische Befunde fanden damit eine weitere Bestätigung. Wenig später können die neu gebildeten, nun radioaktiv markierten Fermentstufen nicht mehr im rauhen endoplasmatischen Retikulum, sondern im Golgifeld nachgewiesen werden (Figur 7), wo sie zur Hauptsache über Golgivesikel, -vakuolen und teilweise auch schon über unreifen Sekretgranula lokalisiert sind. Es hat somit eine Verschiebung bzw. ein Transport von neu gebildeten Stoffen, im vorliegenden Falle von Eiweissen, stattgefunden. Dieser Befund einer intrazellulären Verschiebung von Syntheseprodukten lässt sich mit biochemischen Methoden nur schwer erfassen. In späteren Versuchzeitpunkten nach der Injektion radioaktiv markierter Aminosäure kann schliesslich die Leucinaktivität über den reifen Sekretgranula aufgefunden werden (Figur 8).

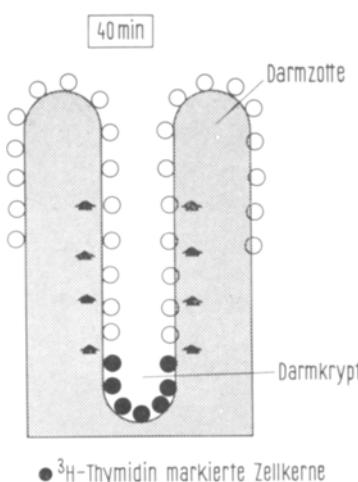


Fig. 4. Schematische Darstellung der Abwanderung von Darmepithelzellen bei Anwendung der autoradiographischen Methode. 40 min nach der Injektion von  $^3\text{H}$ -Thymidin sind die Zellkerne der Darmkryptenbasis, das heisst der Zellteilungszone, markiert.

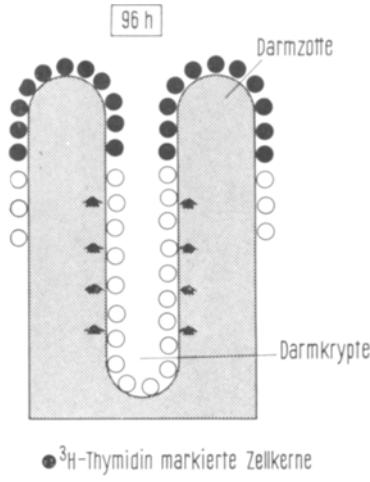


Fig. 5. Vergleiche Fig. 4. 96 h nach der Injektion von  $^3\text{H}$ -Thymidin sind die nach der Zottenspitze hin abgewanderten Zellen markiert.

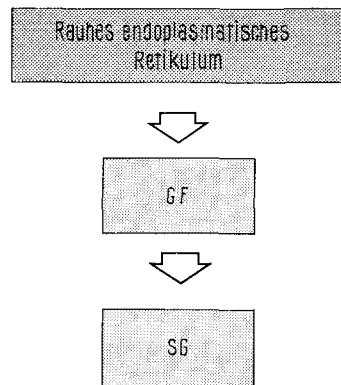
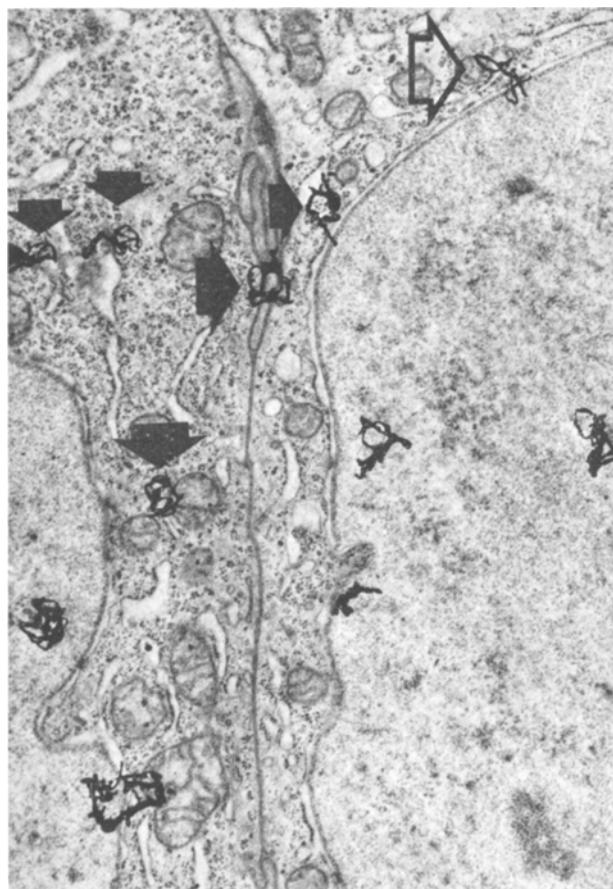


Fig. 6. Elektronenmikroskopisches Autoradiogramm, Brunnersche Drüse der Maus. 15 min nach der Injektion von  $^3\text{H}$ -Leucin kann die Aktivität über dem rauhen endoplasmatischen Retikulum beobachtet werden.

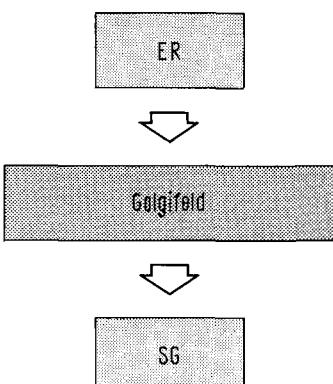
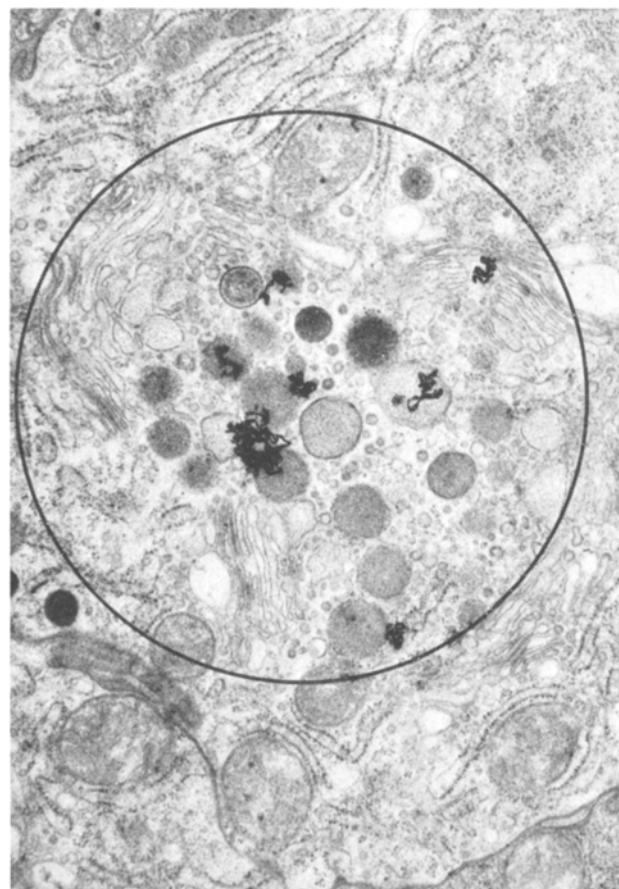


Fig. 7. 60 min nach der Injektion von  $^3\text{H}$ -Leucin haben sich die markierten, neugebildeten Eiweisse zum Golgfeld hin verschoben.

Damit gewinnt die eingangs ausgeführte Aufzählung der mit anabolen Zellfunktionen verknüpften Zellorganellen in einer bestimmten Reihenfolge durch die Anwendung der autoradiographischen Methode ihren Sinn.

Die Autoradiographie gestattete es erstmals, auch morphologisch die einzelnen Phasen der Eiweiss-Synthese zeitlich und topographisch präzise zu erfassen, wodurch eine Vielzahl von biochemisch längst bekannten Befunden eine weitere Bestätigung fanden. Im besonderen konnte der Funktionskreis des Golgi-feldes, das biochemisch nur schwer erfasst werden kann, erweitert werden. Der vorhin skizzierte Syntheseweg von Eiweisskörpern verläuft grundsätzlich in analoger Weise in so verschiedenen Organen wie etwa der Bauchspeicheldrüse, der Leber und dem Knorpel- oder Knochengebiete.

Die Aufklärung dieser «dynamischen» Ordnung innerhalb der Zelle wie die Klärung von Stoffwechselsequenzen innerhalb der Zelle mit Hilfe der Autoradiographie schafft im Arbeitsfeld des Morphologen gewissermassen ein Rückgrat im Qualitativen. Einer weiteren Klärung hingegen bedarf die Differenzierung dieser Ordnung in Zellen und Geweben verschiedenartigster Funktion. Damit würde sich die ungleich viel schwieri-

ger zu beantwortende Frage nach der Dimensionierung der einzelnen Bauelemente in verschiedenen Zellsystemen stellen.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten und Anwendungsbereiche der elektronenmikroskopischen Autoradiographie bilden Fermentdarstellungen, der Nachweis von Pharmaca, Probleme der Membranbildung und der Regeneration sowie Fragen der Stoffaufnahme und Stoffabgabe, wie etwa in der Nierentubuluszelle, sowie Fragestellungen aus dem Gebiete der Neurosekretion. Dieser Anwendungskreis wird in entscheidender Weise erweitert werden können mit der Einführung der Gefriertrocknung, welche auch den autoradiographischen Nachweis von wasserlöslichen radioaktiv markierten Stoffen gestatten wird.

Auch im ultrastrukturellen Bereich verwischen sich die Grenzen zwischen der experimentellen Pathologie und der experimentellen Anatomie; dies nicht zuletzt der eben skizzierten Prämissen wegen, wie etwa der Wahl eines geeigneten Versuchsmodells. So arbeitet oft auch der Anatome an Modellen, die der Pathologie entliehen sind. Zum Beispiel kann eine gezielte Hemmung eines bestimmten Stoffwechselschrittes es gestatten, zu einer weiteren Klärung einer Teilfunktion einer Zellorganelle zu gelangen. Eines der Hauptpro-

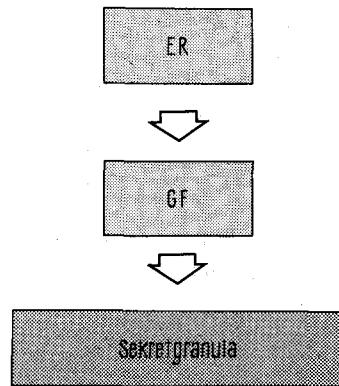
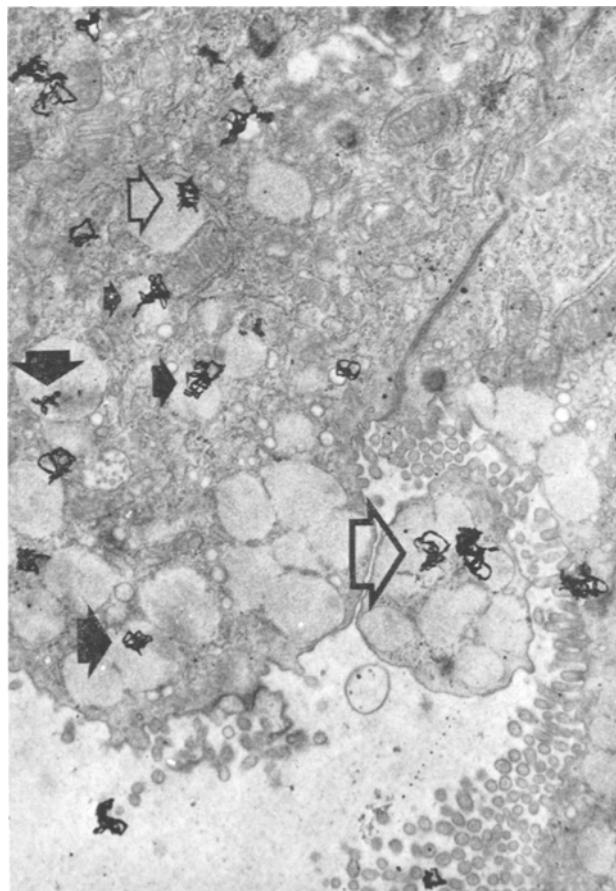


Fig. 8. 240 min nach der  $^3\text{H}$ -Leucininjektion können die markierten Eiweisse über den reifen Sekretgranula beobachtet werden.

bleme für den in der Ultrastrukturforschung tätigen Pathologen bildet die möglichst genaue Erfassung der Übergänge zwischen Strukturwandel bzw. Strukturstörung sowie zwischen Funktionswandel und Funktionsstörung. Die enorme Plastizität der Zelle sowie ihre Dynamik werden jedoch diese Übergänge von der funktionell unveränderten zur pathologisch veränderten Zellorganelle immer nur schwer bestimmen lassen. Zwischen Anpassung und Schädigung bestehen zahlreiche fliessende Übergänge. In diesem Zusammenhang sei lediglich an die tiefgreifenden Umbauvorgänge innerhalb der Leberzelle in Abhängigkeit von der Tageszeit erinnert. Ausserdem zeigt es sich, dass mit zunehmender Differenziertheit der Zelle ihr dynamisches, inneres Ordnungsgefüge um so leichter gestört werden kann. Obschon im lichtmikroskopischen Bereich einem Funktionswechsel nicht immer eine Strukturumwandlung, bzw. einem Strukturwechsel ein Funktionswandel zugeordnet werden kann, macht es das Elektronenmikroskop heute jedoch wahrscheinlich, dass jeder Funktionswandel und jede Funktionsstörung von einer Strukturänderung begleitet ist und umgekehrt. Die Umformungen von Organ-, Zell- oder Zellorganellstrukturen vollziehen sich in enger Abhängigkeit vom jeweiligen Funktionszustand.

Versuchen wir, im ultrastrukturellen Bereich die zahllosen, bisher beschriebenen Einzelveränderungen der Zelle bzw. der Zellorganelle unter pathologischen Bedingungen zu sichten – DAVID<sup>2</sup> zitiert in seiner eben erschienenen elektronenmikroskopischen Organpathologie über 8000 in den letzten 10 Jahren erschienene Einzelarbeiten –, so mag es sinnvoll erscheinen, alle diese Schädigungen den beiden eingangs skizzierten anabolen und katabolen Funktionskreisen zuzuordnen, obschon der Versuch einer solchen Einteilung die grosse Gefahr jeder Schematisierung in sich trägt. Wir stehen hier am Anfang einer neuen Entwicklung, deren Umrisse wir eben erst zu erkennen vermögen; am Anfang einer Entwicklung, die ein völliges Umdenken erfordert. So scheinen sich heute in analoger Weise, wie wir dies für die physiologischen Zellfunktionen darzustellen versuchten, im Prinzip sowohl anabole als auch katabole Reaktionstypen abzuzeichnen. Dabei handelt es sich hier um Reaktions- oder Regulationsprinzipien, die in grundsätzlich analoger Weise vom Einzeller bis zum Menschen beobachtet werden können. Gerade aus diesem Grunde vermögen oft scheinbar ausgefallene Tierarten die einfachsten und übersichtlichsten Versuchsmodelle abzugeben.

Als anabolen Reaktionstyp der Zelle betrachten wir etwa eine Vergrösserung des Volumenanteiles von bestimmten Zellkompartimenten bei einer gesteigerten Zellorganellfunktion. Bei der Objektivierung von solchen Teilbeständen hat sich in besonderer Weise die Morphometrie, das heisst die primär statistische Flächen- und Volumenerfassung zum Beispiel mit Hilfe des Trefferverfahrens, als fruchtbar erwiesen.

An möglichen Reaktionen der Zelle als Antwort auf eine Schädigung kennen wir im Prinzip den totalen Zelltod, den partiellen Zelltod, die Adaptation oder Anpassung sowie schliesslich die Regeneration der überlebenden Zellen. Die Aufzählung dieser immer wiederkehrenden Grundphänomene als Antwort auf eine Schädigung bedeutet damit aber auch, dass eine Schädigung einer einzelnen Zellorganelle nicht unbedingt eine Schädigung oder den Tod der ganzen Zelle zur Folge hat, so wie eine Schädigung einer einzelnen Zelle nicht unbedingt eine Organschädigung bedingt oder eine Organschädigung nicht unbedingt von einer Schädigung des Gesamtorganismus gefolgt sein muss. Zudem zeigt es sich, dass in ein und derselben Zelle zugleich sowohl Reaktionstypen vom anabolen Charakter, wie z. B. eine Anpassung oder Adaptation oder eine Regeneration, als auch Reaktionstypen vom katabolen Charakter, wie der partielle Zelltod, ablaufen können.

Das katabole Reaktionsvermögen der Zelle scheint im wesentlichen mit den Lysosomen, den Trägern von hydrolytischen Fermenten, verknüpft zu sein. Dabei kann heute eine ganze Reihe von verschiedenen lysosomalen Funktionsformen bzw. Funktionsphasen unterschieden werden, die leider zu einer erheblichen Verwirrung der Terminologie geführt haben. Bei der Identifikation dieser sehr polymorphen lysosomalen Körper spielt die histochemische ultrastrukturelle Darstellung der sauren Phosphatase, dem vorgenannten Leitenzym der Lysosomen, eine wichtige Rolle. Diese verschiedenen lysosomalen Funktionsformen, denen bei vielen Antworten auf eine Schädigung der Zelle eine wichtige Bedeutung zukommt, werden heute im sogenannten Lysosomenkonzept, wie es von DE DUVE entwickelt wurde, zusammengefasst. Einen integrierenden Bestandteil des Lysosomenkonzeptes bildet die Existenz der Phagolysosomen und Zytolysosomen. Durch den Vorgang der Phagozytose können fremde Stoffe von der Zelle aufgenommen werden und sodann in den Phagolysosomen unter Mitbeteiligung von lysosomalen Fermenten verdaut werden. Andrerseits besitzt die Zelle die Fähigkeit, als Antwort auf eine Schädigung umschriebene Zytoplasma- oder Zellorganellbezirke zu isolieren und zu verdauen; ein Vorgang, welcher als Autophagie bezeichnet wird und zur Entstehung der Zytolysosomen führt. Solche fokale zytoplasmatische Degenerationsherde bilden das Äquivalent des partiellen Zelltodes, welcher uns deutlich veranschaulicht, dass sich die Antworten der Zelle auf jede Schädigung nach einem strengen Ökonomieprinzip vollziehen. Die unverdaulichen Reste der Phago- oder Zytolysosomen können als sogenannte Restkörper, «residual bodies», in der Zelle liegenbleiben oder im Sinne einer primitiven Defäkation aus der Zelle ausgestossen werden.

Heute jedoch kennen wir auch eine Mitbeteiligung von lysosomalen Zellelementen nicht nur bei der Antwort auf verschiedenste Zellschädigungen, sondern wir

wissen auch, dass die Lysosomen bei der Regulation physiologischer Zellvorgänge, wie etwa bei der endokrinen Sekretion, eine bedeutsame Rolle spielen.

Auch beim Studium der Zellregeneration, dem zuletzt angeführten anabolen Reaktionstyp der Zelle als Antwort auf eine Schädigung, scheint sich die Anwendung der Autoradiographie in der Elektronenmikroskopie als fruchtbar zu erweisen. Vor dem Auftreten der ersten Zellteilungen können beispielsweise während der rasch und intensiv einsetzenden Leberzellregeneration nach partieller Entfernung der Leber oder bei der Tubuluszellregeneration nach Sublimatvergiftung der Niere zumindest teilweise lysosomal gesteuerte Entdifferenzungsvorgänge beobachtet werden. Der Einsatz von  $^3\text{H}$ -Thymidin, einem Baustein der DNS, gestattet es, solche sich entdifferenzierende und sich nach der Zellteilung wieder ausdifferenzierende Zellen, welche rein morphologisch nicht immer voneinander unterschieden werden können, eindeutig zu identifizieren. Außerdem könnte bei Wahl einer geeigneten Versuchsanordnung mit Hilfe von  $^3\text{H}$ -Thymidin die Ausbildung der Zellorganellen, d.h. ihre Ausdifferenzierung autoradiographisch präzise zeitlich nachgezeichnet werden.

Die Anwendung moderner Methoden, wie etwa der Histochemie und der Autoradiographie, gewinnt in jüngster Zeit somit auch in der ultrastrukturellen Pathologie zunehmend an Bedeutung. Dabei wird eine Verfeinerung der präparativen Eingriffe sowie das Bestreben, die Ultrastruktur der Zelle in möglichst vitalem Zustand zu erfassen – eine Entwicklung, die sich mit der sogenannten Gefrierätzung und Gefriertrocknung bereits abzeichnet –, von entscheidender Bedeutung sein.

Diese wenigen skizzenhaften Bemerkungen lassen erkennen, dass wir heute erst am Anfang einer Pathologie der Zellorganelle oder besser vielleicht einer Pathologie von Funktionskreisen stehen. Die ultrastrukturelle Pathologie bringt uns nicht nur einen Schritt weiter in der Feindiagnostik von verschiedenen ausgewählten Krankheitsbildern, sondern sie lässt uns hoffen, die verwirrend vielfältigen Schädigungen der Zelle auf relativ einfache Grundphänomene zurückzuführen zu können. Doch stehen wir eben erst am An-

fange einer solchen Entwicklung, die im Grunde genommen bei aller scheinbaren Spezialisierung, die durch die hochdifferenzierten Methoden bedingt ist, einer Aufsplittung in kleinste Fachgebiete diametral entgegengesetzt ist. In diesem Sinne betrieben, steht eine experimentelle ultrastrukturelle Pathologie auch einer einseitigen, möglicherweise gefährlichen, heute zumindest methodisch nicht mehr zu umgehenden Spezialisierung entgegen und bringt uns vielmehr einen Schritt weiter auf dem Wege zur Synthese und Verschmelzung von verschiedensten Fachgebieten. Doch bis dahin werden zahllose Hindernisse sowohl rein fachlicher Natur als aber auch solche, die sich aus der gegenwärtigen Struktur der Institute ergeben, zu überwinden sein.

Wir stehen somit vor einer vollkommen neuen Situation, deren «neue Ordnung» bzw. Ordnungsprinzipien im Sinne VIRCHOWS wir eben in ihren ersten, noch unscharfen Umrissen zu erkennen vermögen. In diesem Sinne möchte ich mit einem Zitat des Schweizer Historikers KARL MEIER schliessen: «Der Wissenschaftler muss nicht nur den Mut zur Synthese, sondern auch zum Irrtum aufbringen. Ein Irrtum in wertvoller Sache kann die Wissenschaft oft mehr bereichern als die einwandfreie Feststellung eines unbedeutenden Umstandes.»

**Summary.** The historical development of the morphological approach is reviewed. The first attempts to use a functional-dynamic mode of attack were made by VIRCHOW. The modern methods of morphology, such as autoradiography and morphometry, have shown more and more clearly that cells are governed by complex principles of organization which are closely connected with one another. It is principally catabolic and anabolic systems of function which ensure this organization. The fact that they are dynamic cell processes is also seen in the ultra-structural pathology, since, in response to injury, cells immediately show catabolic and also anabolic reactions. Thus the different influences upon the cell can probably be traced to simple basic phenomena.

Auf umfassende Literaturangaben wird hier verzichtet. Im folgenden sollen lediglich diejenigen Werke aufgeführt werden, welche im wesentlichen die Grundlage dieser Arbeit bilden.

- E. ACKERKNECHT, *Rudolf Virchow, Arzt, Politiker, Anthropologe* (F. Enke Verlag, Stuttgart 1957).
- C. BERNARD, *Ausgewählte physiologische Schriften* (H. Huber Verlag, Bern/Stuttgart 1966).
- F. BÜCHNER, *Allgemeine Pathologie* (Urban Schwarzenberg Verlag, München/Berlin 1968).
- H. DAVID, *Elektronenmikroskopische Organpathologie* (Akademie Verlag, Berlin 1967).
- D. W. FAWCETT, *The Cell, its Organelles and Inclusions* (Saunders, Philadelphia/London 1966).
- E. FRIEDELL, *Kulturgeschichte der Neuzeit* (C. H. Beck'sche Verlagsbuchhandlung, München 1931).
- E. LETTERER, *Allgemeine Pathologie* (G. Thieme Verlag, Stuttgart 1959).
- H. P. ROHR, *Les possibilités d'application de l'autoradiographie à la microscopie électronique* (J. Wiley and Sons, Inc., New York/London/Sidney 1969), in press.