

Elektronenmikroskopische und enzymatisch-analytische Untersuchung eines eosinophilen Granuloms *

GUDMUNDUR GEORGSSON und WOLFGANG WESSEL

Pathologisches Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Eingegangen am 2. September 1967

Electronmicroscopic and Enzymatic Studies of an Eosinophilic Granuloma

Summary. The cytoplasm of histiocytes of an eosinophilic granuloma reveals electron-microscopically two different forms of lipid-containing granules that can readily be differentiated from lysosomes. In the eosinophilic leucocytes, the other important cell-type of the granuloma, enzymatic digestion studies indicate the outer parts of the eosinophilic granules consist of lipids and lipoproteins. The inner parts are composed of proteins with numerous osmium-reducing groups. Pepsin completely digests the proteinaceous Charcot-Leyden crystals, which, however, are resistant to lipase.

Zusammenfassung. Es wird die Ultrastruktur eines eosinophilen Granuloms des Knochens beschrieben. In den stark lipid-speichernden *Histiocyten* lassen sich elektronenoptisch durch ihre unterschiedliche Gestalt und Osmiophilie zwei verschiedene Formen lipid-speichernden Granula abgrenzen, die sich deutlich von Lysosomen unterscheiden.

Bei dem zweiten, wichtigen, cellulären Element des Granuloms den *eosinophilen Leukozyten* läßt sich mit Hilfe hydrolytischer Enzyme (Lipase, Pepsin) zeigen, daß das Externum der eosinophilen Granula aus einem Gemisch von Lipiden und Lipoproteiden und das Internum aus Proteinen mit zahlreichen osmium-reduzierenden Gruppen besteht. Entsprechend ihrer Eiweißnatur werden die Charcot-Leydenschen Kristalle durch Pepsin vollständig abgebaut, während sie gegen Lipase resistent sind.

FARBER (1941) hat als erster auf die morphologische Ähnlichkeit des eosinophilen Granuloms des Knochens mit der Hand-Schüller-Christianschen und Letterer-Siweschen Krankheit hingewiesen. LICHTENSTEIN (1953) vertrat die Ansicht, daß diese drei Krankheitsbilder eine nosologische Einheit darstellen und faßte sie unter dem Oberbegriff "Histiocytosis X" zusammen. Viele Autoren stimmen dieser Auffassung zu, während andere die Zugehörigkeit des eosinophilen Granuloms zu dieser Gruppe in Zweifel ziehen bzw. ablehnen. In den letzten Jahren wurde die Elektronenmikroskopie zur weiteren Erforschung dieser Krankheiten herangezogen. Bei den untersuchten Fällen von eosinophilem Granulom handelte es sich vor allem um disseminierte Formen (RITTER, 1966; MARKERT, 1967). FRÜHLING u. Mitarb. (1961) beschrieben die Ultrastruktur eines solitären eosinophilen Granuloms. In den letzten Monaten hatten wir Gelegenheit, ein solitäres eosinophiles Granulom des Unterkiefers elektronenmikroskopisch zu untersuchen. Über die übliche deskriptive Elektronenmikroskopie hinaus haben wir durch Einwirkung hydrolytischer Enzyme nach verschiedenen Fixierungsverfahren eine ultrastrukturelle enzymatische Analyse durchgeführt. Dabei galt

* Mit freundlicher Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

unser Interesse vor allem auch den Granula der eosinophilen Leukocyten. Zur besseren Beurteilung der Alterungsstufen bzw. der ultrastrukturellen Veränderungen der Granula mit zunehmendem Alter untersuchten wir außerdem ein an eosinophilen Leukocyten sehr reiches Myxofibrom der Harnblase, welches histologisch stellenweise eine große Ähnlichkeit mit dem eosinophilen Granulom des Knochens besaß.

Material

Das eosinophile Granulom entstammte dem Unterkiefer eines 4jährigen Mädchens, bei welchem nach 20monatiger Beobachtungszeit keine weiteren Herde aufgetreten sind. Zur ultrastrukturellen Darstellung und enzymatischen Analyse der eosinophilen Leukocyten verwendeten wir außerdem Gewebe aus einem dicht mit Eosinophilen infiltrierten Myxofibrom der Harnblase eines 12jährigen Mädchens.

Methode

Das Gewebe wurde für die Elektronenmikroskopie in 1%iger, gepufferter Osmiumsäure (pH 7,3) oder in 8%igem, gepuffertem Glutaraldehyd (pH 7,5) 2 Std fixiert. Für die enzymatische Analyse wurden kleine Gewebstücke (ca. 1 mm³) in 8%igem, gepuffertem Glutaraldehyd (pH 7,5) für 10 min vorfixiert und anschließend mit Lipase (pH 7,5) oder Pepsin (pH 2,2) in jeweils 0,2%iger Konzentration im Brutschrank bei 37° C 30 min inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Gewebstücke 2 Std in Osmiumsäure fixiert. Nach der Entwässerung in Alkohol erfolgte die Einbettung in Epon. Die Dünnschnitte wurden mit LKB-Ultratom II angefertigt und mit Uranylacetat und anschließend mit Bleicitrat jeweils 20 min nachkontrastiert. Die Schnitte wurden mit einem Siemens Elmiskop I und mit einem Elmiskop II untersucht.

Ergebnisse

Histologisch zeigt das eosinophile Granulom (A Nr. 14200/65) ein locker gefügtes Gewebe mit vereinzelt Capillarsprossen. Das Zellbild wird von Histiocyten beherrscht, die manchmal ein großes schaumiges Cytoplasma nach Art sog. Pseudoxanthomzellen aufweisen und stellenweise in dichter Lagerung vorkommen. Hie und da fallen mehrkernige Riesenzellen auf. Die Kerne sind gleichmäßig gestaltet. Die eosinophilen Leukocyten sind oft zu sog. Mikroabscessen zusammengelagert. Das Gewebe wird von zahlreichen Lymphocyten, vereinzelt neutrophilen Leukocyten und Plasmazellen infiltriert. An einigen Stellen finden sich kleine Nekrosen, Blutungen und Ablagerungen von Cholesterinkristallen. Zum Rande hin vernarbt das Granulom. Nach diesem Befund handelt es sich um ein eosinophiles Granulom, das nach der Einteilung von ENGELBRETH-HOLM u. Mitarb. (1944) sowie GÜTHERT (1952) ein teils granulomatöses, teils xanthomatöses Stadium zeigt.

Bei den *elektronenmikroskopischen Befunden* möchten wir uns auf die Beschreibung der charakteristischen Zellen des eosinophilen Granuloms, die Histiocyten und eosinophilen Leukocyten, beschränken. Die Kerne der *Histiocyten* sind groß, meist von unregelmäßiger Gestalt und weisen häufig tiefe Einkerbungen auf. Das Chromatin ist locker strukturiert und gleichmäßig ohne örtliche Verdichtungen verteilt. Häufig sind ein bis zwei relativ große Nucleolen zu erkennen. Das Cytoplasma ist von wechselnder Größe und nimmt proportional mit der Einlagerung von osmiophilen Substanzen bzw. Lipiden zu. Jede Zelle enthält Lipide, die teils in Form vereinzelter, kleiner Tropfen vorliegen, teils aber auch fast das gesamte Cytoplasma einnehmen und das restliche Cytoplasma häufig zu einem

schmalen Netzwerk zusammendrängen (Abb. 1). Im Cytoplasma der Histiocyten lassen sich mehrere Formen von Granula abgrenzen. Bei den einen handelt es sich um Lysosomen bzw. Phagolysosomen (Abb. 1 u. 2), die eine feingranuläre Matrix besitzen. Die Lysosomen schließen unregelmäßig begrenzte osmiophile Bezirke ein und werden von einer Doppelmembran umschlossen. Bei den vorwiegend in der Cytoplasma-Peripherie liegenden Phagolysosomen ist die Matrix meist dichter und die Abgrenzung gegen die Umgebung nicht so scharf. Neben diesen Organellen fallen noch lipidspeichernde Granula auf, die sich in 2 Gruppen unterteilen lassen. Die eine Gruppe entspricht den in Abb. 1 mit „L“ bezeichneten Lipidablagerungen, die oft in Schläuchen des endoplasmatischen Reticulum liegen und aus einem schwach osmiophilen homogenen Material bestehen. Die zentralen Anteile dieser Ablagerungen erscheinen vacuolär. Die zweite Gruppe lipidspeichernder Granula ist in Abb. 1 mit „M“ bezeichnet und unterscheidet sich von der ersten durch die stärkere Osmiphilie und die Ausbildung von Myelinfiguren (myelinartige Lipide). Außerdem werden diese Granula von einer scharfen Membran umgrenzt und sind unabhängig vom endoplasmatischen Reticulum. Es bestehen hier fließende Übergänge zu den bei den cerebellaren Lipidosen beobachteten lipidspeichernden Granula. Der Volumenanteil dieser Organellen am Cytoplasma betrug in unserem Fall 3,2% (s. Tabelle).

Tabelle. Anteil der Mitochondrien, Lysosomen und Lipidgranula am Cytoplasmavolumen der Histiocyten in Prozent

Mitochondrien	Lysosomen	Lipidgranula	Myelinartige Lipide
1,9	1,5	16,3	3,2

Die typischen Schaumzellen des eosinophilen Granuloms sind gekennzeichnet durch die homogenen, schwach osmiophilen Lipidablagerungen („L“), deren Volumenanteil am Cytoplasma je nach Entwicklungsstadium zwischen 1 und 30% liegt. Als Mittelwert ergab sich bei unseren Messungen ein Anteil von 16,3 Vol.-%. In Abb. 2 sind mehrere Lysosomen dargestellt, die sich von den lipidspeichernden Granula in Abb. 1 deutlich unterscheiden. Dabei lassen sich hin und wieder Einschlüsse mit kristalliner Gitterstruktur nachweisen (Abb. 2 b). In dem mit Glutaraldehyd fixierten und mit Lipase inkubierten Gewebsstücken lassen sich erwartungsgemäß keine Lipidablagerungen nachweisen. Die meisten Histiocyten sind mit reichlich freien Ribosomen ausgestattet, während die anderen Cytoplasmaorganellen wie das endoplasmatische Reticulum, Mitochondrien und Golgi-Strukturen spärlich vorkommen. Die Zellmembran zeigt häufig Pinocytosebläschen und bildet an einigen Stellen reichlich Mikrovilli, die stellenweise mit angrenzenden Zellen stark verzahnt sind. Haftorganellen sind nicht nachweisbar.

Eosinophile Leukocyten. Die Kerne besitzen häufig zwei Segmente mit dichtem Chromatingerüst. Die Cytoplasmaorganellen sind bis auf sehr zahlreiche eosinophile Granula spärlich, so verhält sich z.B. das Gesamtvolumen der Mitochondrien zu dem der Granula wie 1:20. Die Granula nehmen nach unseren morphometrischen Messungen durchschnittlich 11% des Cytoplasmavolumens ein. Die eosinophilen Granula sind rund bis oval, von ziemlich regelmäßiger Gestalt,

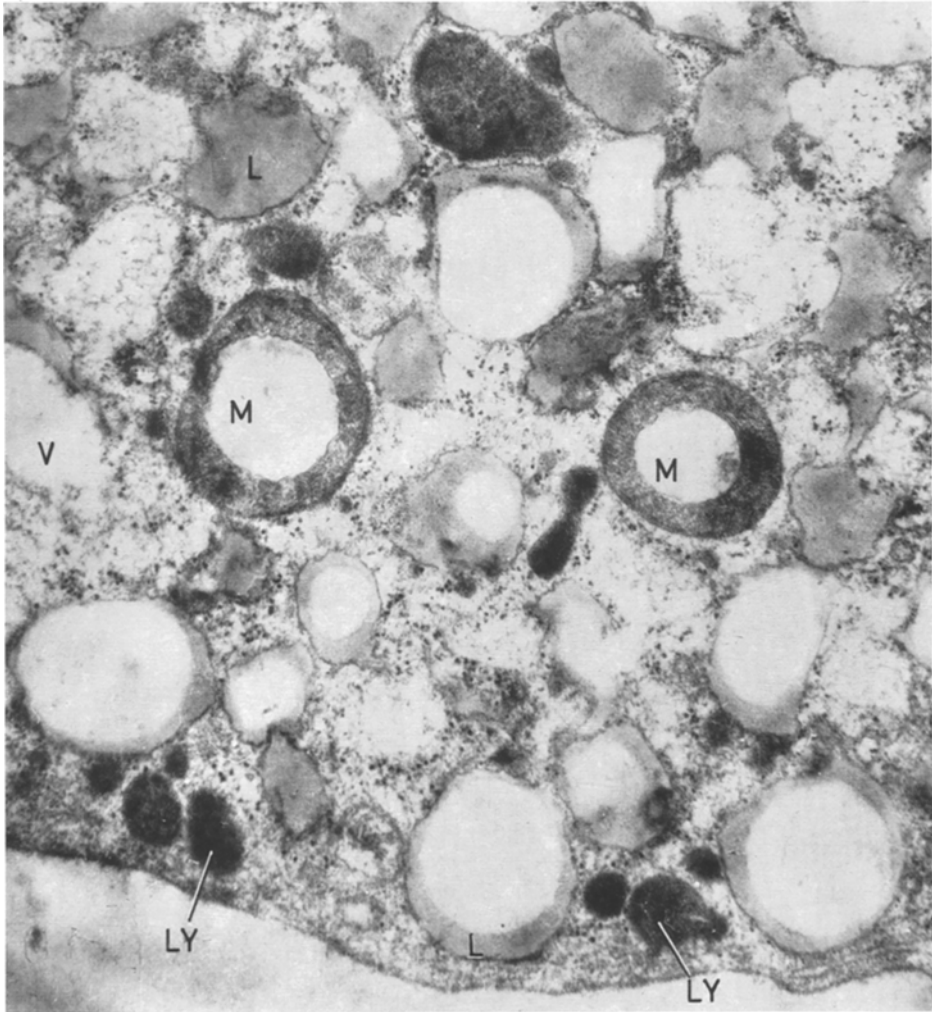


Abb. 1. Histiocyt, von Lipidablagerungen durchsetzt (*L*), die teilweise völlig herausgelöst sind, so daß optisch leere Vacuolen (*V*) entstehen. Das Cytoplasma ist stellenweise auf ein schmales Netzwerk reduziert. Myelinartige Strukturen (*M*). Lysosomen (*LY*). Osmiumfixierung. Vergr. 30000 \times

während die Größe der Anschnitte wechselt. In osmiumfixierten Präparaten sieht man folgendes Bild: In einem mäßig elektronendichten, granulär erscheinenden Grundkörper bzw. Externum liegt ein sehr elektronendichtes, anguläres, vorwiegend zentrales Innengranulum bzw. Internum (Abb. 4). Das Internum ist meist rechteckig, langgezogen und nimmt gelegentlich den ganzen Durchmesser des Externum ein. Manchmal sieht man aber unregelmäßig gestaltete Interna, die aus mehreren Teilchen bestehen (Abb. 3). Die Volumenrelation von Internum und Externum beträgt nach unseren morphometrischen Messungen 40:60 (%)

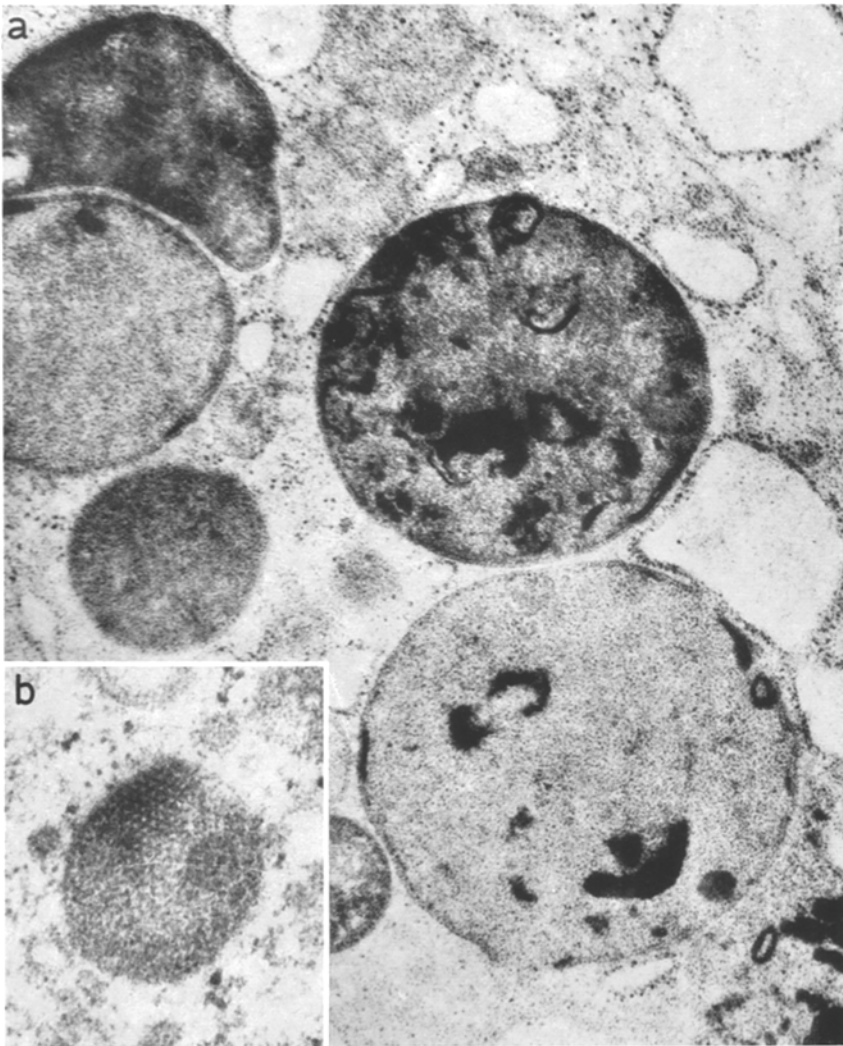


Abb. 2. a Ausschnitt aus einem Histiocyten mit mehreren Lysosomen. Osmiumfixierung. Vergr. 30000 \times ; b Virusähnlicher Einschluß in einem Histiocyten mit deutlicher kristalliner Struktur. Osmiumfixierung. Vergr. 50000 \times

Hie und da sind keine Interna zu erkennen. Meist handelt es sich dabei um kleinere Granulaanschnitte. Nicht selten trifft man gut erhaltene Granula im extracellulären Raum an.

Die von uns beobachteten, vereinzelt Charcot-Leydenschen Kristalle zeigen eine eckige Form und liegen immer extracellulär in der Nähe zerfallender Zellen. Im Gegensatz zu den osmiumfixierten Präparaten zeigen die eosinophilen Granula nach alleiniger Glutaraldehydfixierung eine völlig andere Ultrastruktur. Das lipidreiche Externum wird bei der Entwässerung in der Alkoholreihe heraus-

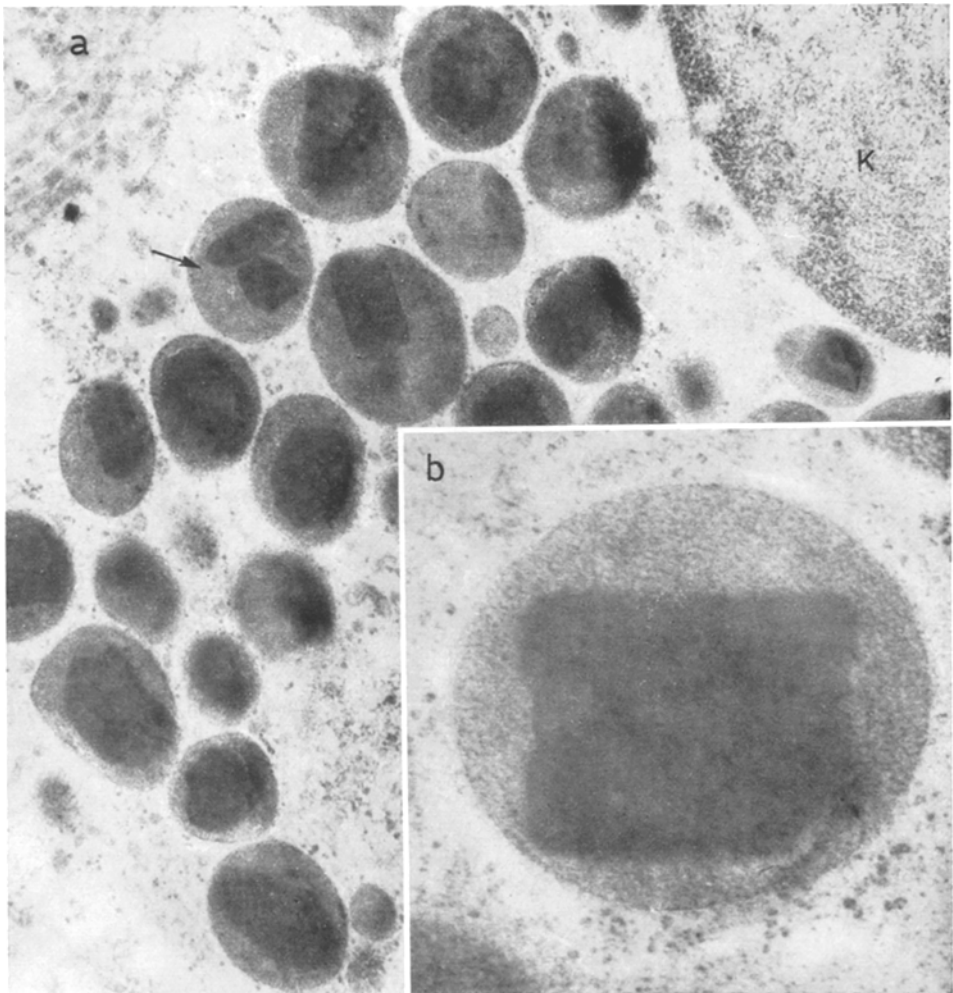


Abb. 3. a Eosinophiler Leukocyt mit Granula von typischem Bau. Das Internum ist unregelmäßig gestaltet und fehlt mitunter. An einer Stelle zwei Interna (→). Osmiumfixierung. Vergr. 30000×; b Ein eosinophiles Granulum bei stärkerer Vergrößerung. Osmiumfixierung. Vergr. 82500×

gelöst, wodurch die Außenmembran, die in den osmiumfixierten Schnitten dem elektronendichten Externum dicht anliegt und kaum zu erkennen ist, deutlich hervortritt. Das Internum zeigt meist nur geringe Zeichen der Auflösung. Gelegentlich wird aber auch das Internum gelöst. Daraus ist zu schließen, daß das Internum in einzelnen Granula reich an Lipiden sein kann. Gleiche Bilder wie nach Alkoholbehandlung erhielten wir nach Einwirkung von Lipase und anschließender Osmiumnachfixierung (Abb. 4 a). Die Charcot-Leydenschen Kristalle zeigen hingegen nach Lipaseeinwirkung keine Veränderungen (Abb. 4 b). Völlig anders verhalten sich die Granula nach Pepsininkubation (Abb. 5).

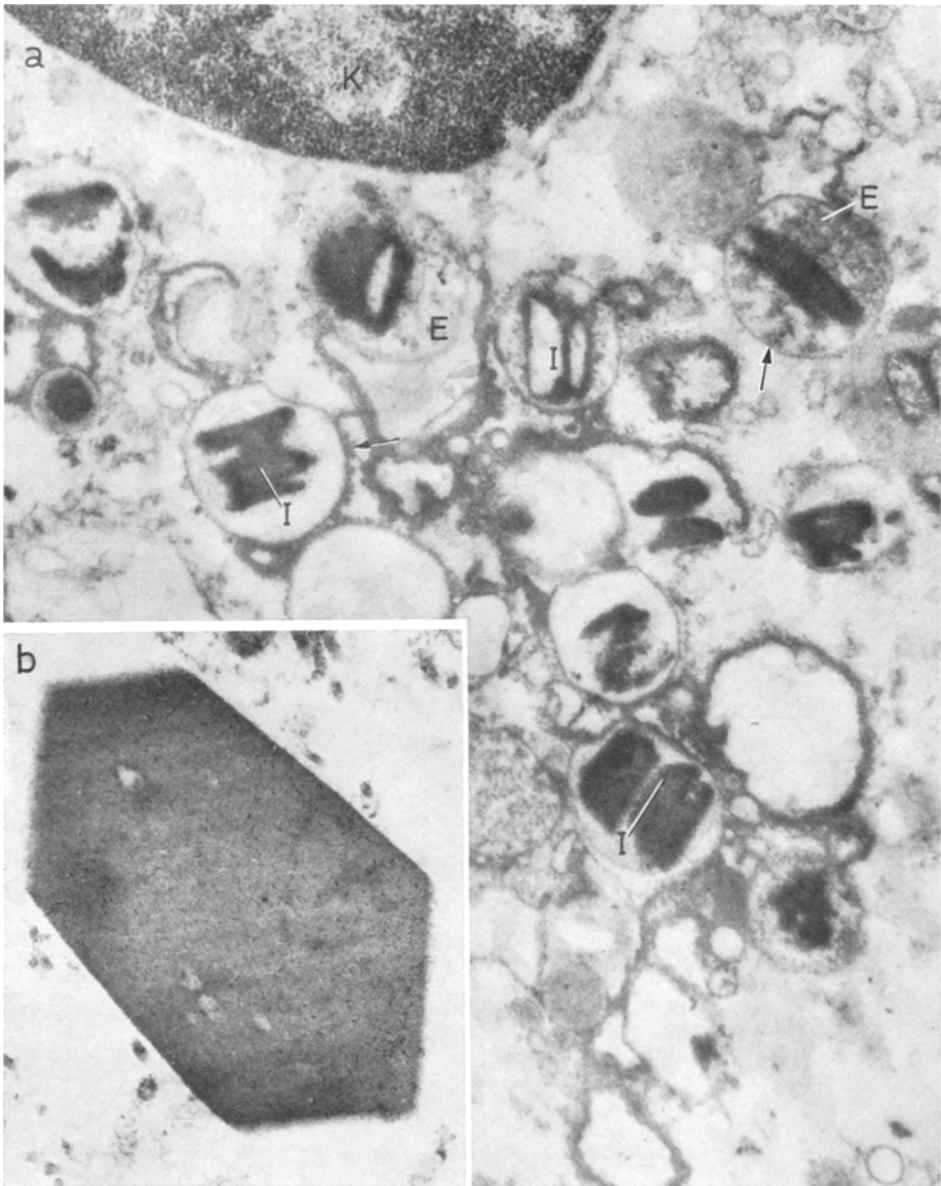


Abb. 4. a Ein in Glutaraldehyd fixierter eosinophiler Leukocyt. Das Externum ist weitgehend gelöst, während das Internum nur leichte Auflösungserscheinungen erkennen läßt. Die doppelkonturierte Außenmembran tritt hier deutlich hervor (\rightarrow). Vergr. 24000 \times ; b Charcot-Leydenscher Kristall nach Einwirkung von Lipase. Vergr. 30000 \times

Gegenüber der Lipasewirkung ist jetzt das Externum besser dargestellt, während das Internum bereits bei kurzer Inkubation seine Elektronendichte verliert und nach längerer Inkubation vollständig verschwindet. Wir möchten danach an-

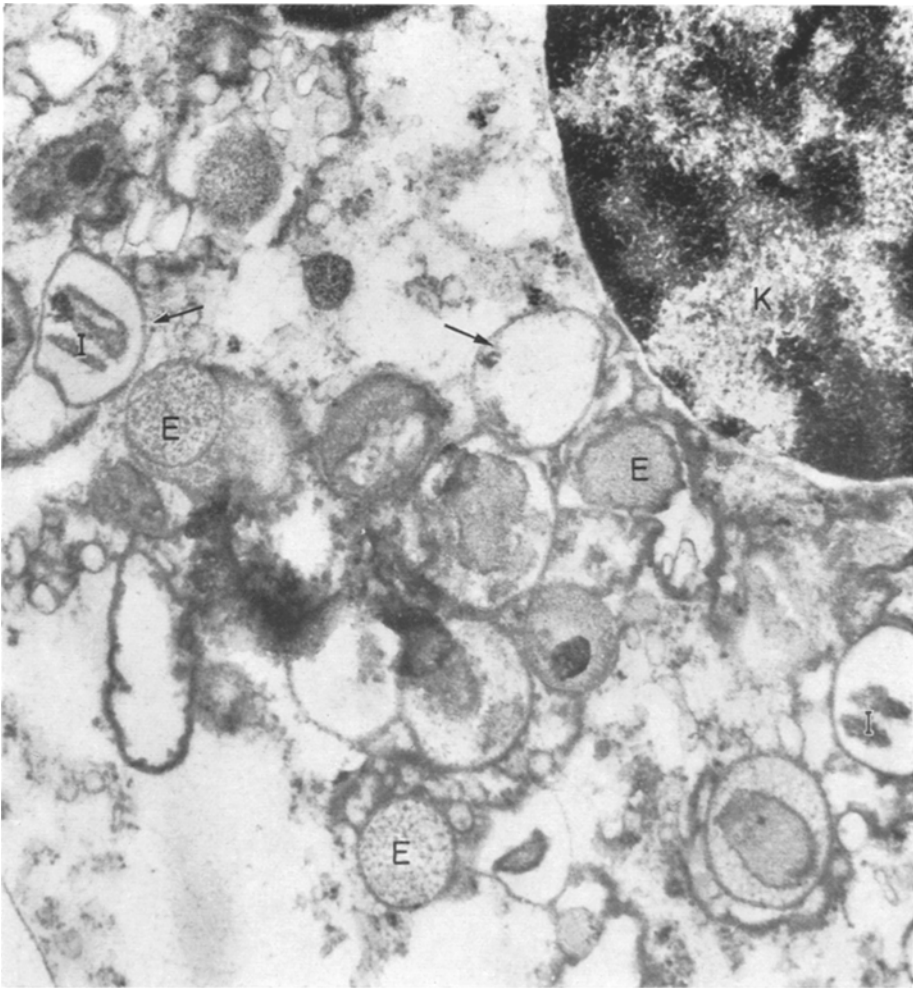


Abb. 5. Eosinophiler Leukocyt nach Pepsineinwirkung. Das Externum ist meist gut zu erkennen (*E*), während nur noch kleine Reste des Internums (*I*) nachweisbar sind. Die doppelkonturierte Außenmembran (\rightarrow) ist deutlich zu erkennen. Vergr. 30000 \times

nehmen, daß das Externum aus einem Gemisch von Lipiden und Lipoproteiden und das Internum vorwiegend aus Proteinen oder Polypeptiden mit ganz geringem Lipidanteil besteht. Die Charcot-Leydenschene Kristalle werden von Pepsin sofort abgebaut und zeigen damit das gleiche Verhalten wie die Interna der Granula. Die starke Osmiophilie spricht in Verbindung mit der geringen Pepsinresistenz für das Vorliegen von Polypeptiden mit aktiven Gruppen.

Diskussion

Die *Histiocyten* bzw. reticulo-histiocytären Zellen des Granuloms ließen ebenso wie in den Fällen von FRÜHLING u. Mitarb. (1961) und RITTER (1966)

stellenweise ein bis zwei große Nucleolen, reichlich freie Ribosomen und eine Membranaktivität als Zeichen einer Proliferation erkennen. Die Ätiologie des eosinophilen Granuloms ist bis heute unklar geblieben. Man hat das Granulom als reaktive Wucherung auf das Eindringen eines infektiösen Agens aufgefaßt. LICHTENSTEIN (1964) und ROSSENBECK (1967) dachten an eine Virusgenese. In unseren Präparaten fanden wir Einschlüsse, die an Viren erinnern (Abb. 2 b), möchten aber eher annehmen, daß es sich hier um auskristallisierte, eiweißreiche Strukturen nicht viraler Genese handelt.

Die *Lipidspeicherung* der Histiocyten zeigt im elektronen-optischen Bild ein sehr unterschiedliches Ausmaß. In unserem Fall bestand, ebenso wie in dem Fall von RITTER (1966), eine stark ausgeprägte Lipidspeicherung, manchmal mit Ausbildung typischer Schaumzellen. Demgegenüber wiesen die Fälle von FRÜHLING u. Mitarb. (1961) sowie MARKERT (1967) eine mäßiggradige Lipidspeicherung ohne Bildung von Schaumzellen auf. Gestalt und Osmiophilie der gespeicherten Lipide zeigen eine große Variationsbreite. Wir fanden ebenso wie RITTER (1966) stellenweise myelinartige Strukturen, die an die Speicherung in cerebellaren Lipidosen erinnern (WALLACE u. Mitarb. 1965). Ein Vergleich der lipidspeichernden Zellen bei cerebellaren Lipidosen mit den Schaumzellen des von uns untersuchten eosinophilen Granuloms zeigt, daß bei den Lipidosen reichlich Speichergranula mit Myelinfiguren und starker Osmiophilie auftreten, die bei den Schaumzellen zwar vorkommen, aber nur etwa 3,2% des Cytoplasma einnehmen. Demgegenüber enthalten die Schaumzellen reichlich homogene Lipidablagerungen mit geringer Osmiophilie in den Räumen des endoplasmatischen Reticulums, deren Volumen bis 30% des Cytoplasma einnimmt. Hier ergibt sich ein wesentlicher Unterschied zwischen den lipidspeichernden Zellen der cerebellaren Lipidosen und Schaumzellen. Häufig waren Auflösungserscheinungen der Lipide festzustellen. Die morphologischen Unterschiede weisen auf eine unterschiedliche chemische Zusammensetzung hin.

Erfahrungsgemäß stellen sich die ungesättigten Lipide mit der *Osmiumfixierung* im Elektronenmikroskop besser dar als gesättigte, die infolge einer zu geringen Osmiumbindung bei der Alkoholentwässerung teilweise extrahiert werden. Nach diesen Befunden ist anzunehmen, daß die in Abb. 1 mit *M* bezeichneten Lipideinlagerungen vorwiegend ungesättigte Lipide oder eventuell auch Phospholipide enthalten, während bei der großen Masse der Lipideinlagerungen (*L*) meist gesättigte Lipide vorliegen. Zu diesen qualitativ bedingten Unterschieden könnte bei den mit *M* bezeichneten Granula noch eine dichtere Packung der Lipide für die stärkere Osmiophilie mit verantwortlich sein. Wie unsere Befunde zeigen, werden bei alleiniger Glutaraldehydfixierung fast alle in den Histiocyten des eosinophilen Granuloms gespeicherten Lipide durch die Alkoholentwässerung extrahiert (s. auch KORN u. WEISMAN, 1966).

ASHWORTH u. Mitarb. (1966) konnten nachweisen, daß nach Behandlung von glutaraldehydfixiertem Gewebe mit 95%igem Äthylalkohol für 6 Std und nachfolgender Osmiumfixierung osmiophile Substanzen völlig gelöst werden. Quantitative Messungen mit radioaktiv-markierten Fettsäuren ergaben, daß nach einer solchen Alkoholextraktion bis 92,6% der Lipide aus glutaraldehydfixiertem Gewebe extrahiert werden, während nach Osmiumfixierung höchstens 7,2% der Lipide gelöst werden. ASHWORTH u. Mitarb. (1966) konnten mit

chromatographischen Methoden nachweisen, daß sehr verschiedenartige Lipide, freies Cholesterin, Cholesterinester, Phospholipide, Mono-, Di- und Triglyceride sowie Fettsäuren, mit Äthylalkohol extrahiert werden. Bei chemischen Analysen von Gewebe des eosinophilen Granuloms und bei Hand-Schüller-Christianscher Krankheit fanden KUTSCHER u. VRLA (1949) sowie MÜLLER u. Mitarb. (1964) größtenteils Cholesterin, vorwiegend in Esterform. Auch Neutralfette und Phosphatide kommen in geringen Mengen vor (KLUGE, 1963).

Die von uns beobachtete *pinocytotische Aktivität* der fettspeichernden Histiocyten spricht dafür, daß die Fettbausteine in gelöster Form aufgenommen und in der Zelle aufgebaut werden, wie man es auch bei der Fettabsorption im Dünndarm annimmt (FAWCETT, 1966).

Die Ansammlung der Lipide im Cytoplasma wird auf einen intracellulären Fermentschaden zurückgeführt, der eine Störung des Lipidabbaues zur Folge hat (KUTSCHER u. VRLA, 1949; LETTERER, 1959; MÜLLER u. Mitarb., 1964; TANNHAUSER, 1950). DeDUVE (1963) lokalisiert den Fermentdefekt in Anlehnung an sein Lysosomenkonzept in die heterogenen, membranbegrenzten Granula, die er als Lysosomen auffaßt. In diesem Zusammenhang betonen FRÜHLING u. Mitarb. (1961), RITTER (1966) sowie MARKERT (1967), daß die Histiocyten des eosinophilen Granuloms besonders reich an Lysosomen bzw. Phagolysosomen sind.

Die *eosinophilen Granula* zeigen im osmiumfixierten Gewebe den typischen Bau, wie er bei verschiedenen Tierspecies und beim Menschen bekannt ist. Eine biochemische Analyse isolierter Granula hat gezeigt, daß das Internum ein argininreiches Protein enthält, während das Externum reich an Phospholipiden sein soll (ARCHER, 1963; BLOOM u. Mitarb., 1950; VERCAUTEREN, 1953 u. 1955). Gegenüber der biochemischen Aufschließung und Untersuchung hat aber die elektronenmikroskopische enzymatische Analyse der eosinophilen Granula den Vorteil, daß man nicht nur zu statistischen Sammelwerten kommt, sondern topochemische Schlüsse ziehen kann. So stellt sich bei der enzymatischen Analyse beispielsweise heraus, daß das Internum eosinophiler Granula zwar in den meisten Fällen einem Protein bzw. Polypeptid entspricht, man aber doch in etwa 5% der Granula ein rein aus Lipiden bestehendes Internum findet. Ein Kontrastverlust des Externum nach Pepsin weist hier außerdem auf das Vorhandensein eines Lipoproteins hin. Die starke Osmiophilie des meist wenig lipidhaltigen Internums macht ferner deutlich, daß man nicht ohne weiteres aus der Osmiophilie einer Struktur auf die Höhe des Lipidgehaltes schließen kann, sondern die Zahl der aktiven, osmiumreduzierenden Gruppen den Ausschlag gibt. Der hohe Lipidgehalt des Externum läßt sich gleichermaßen mit der Lipaseinkubation und Alkoholextraktion an glutaraldehydfixierten Eosinophilen beweisen. MILLER u. Mitarb. (1966) ist es gelungen, die kristalline Struktur des Internums nachzuweisen, dessen Grundgerüst aus Peroxydase bestehen soll.

Die Feinstruktur der von uns beobachteten *Charcot-Leydenschen Kristalle* entspricht den früheren Beobachtungen (FRÜHLING u. Mitarb., 1961; MARKERT, 1966; WELSH, 1959). In unserem Fall lagen die Kristalle immer extracellulär, so daß bei uns wohl nur ältere Stadien vorlagen. FRÜHLING u. Mitarb. (1961) sowie MARKERT (1966) haben gezeigt, daß die Charcot-Leydenschen Kristalle in Makrophagen aus phagozytierten eosinophilen Granula entstehen. WELSH (1959) hat sie auch künstlich in eosinophilen Leukocyten erzeugen können. Da die Kristalle nach Inkubation mit Lipase gut erhalten sind, möchten wir in Übereinstimmung mit chemischen Analysen an isolierten Kristallen (BUDDUCKE u.

Mitarb.) annehmen, daß die Kristalle aus Proteinen bzw. Polypeptiden bestehen und dem Internum der eosinophilen Granula entstammen. MARKERT (1966) nimmt an, daß die Charcot-Leydenschen Kristalle aus einem Lipid-Eiweiß-Gemisch bestehen. Er hält es aber für möglich, daß ältere, extracellulär liegende Kristalle nur noch Polypeptide enthalten. Dafür könnte nach seiner Ansicht auch die Beobachtung sprechen, daß die extracellulär gelegenen Kristalle eine geringere Osmiophilie besitzen als die intracellulären. Die Charcot-Leydenschen Kristalle werden von Pepsin sofort abgebaut und zeigen damit das gleiche Verhalten wie die Interna der Granula. Die starke Osmiophilie spricht in Verbindung mit der geringen Pepsinresistenz für das Vorliegen von Polypeptiden mit aktiven Gruppen.

Literatur

- ARCHER, R. K.: The eosinophil leukocytes. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1963.
- ASHWORTH, C. T., J. S. LEONARD, E. H. EIGENBRODT, and F. J. WRIGHTSMAN: Hepatic intracellular osmiophilic droplets. Effect of lipid solvents during tissue preparation. *J. Cell Biol.* **31**, 301 (1966).
- BLOOM, M. L., and G. B. WISLOCKI: The localisation of lipids in human blood and bone marrow cells. *Blood* **5**, 79 (1950).
- BUDDECKE, E., A. F. ESSELLIER u. H. R. MARTI: Über die chemische Natur der Charcot-Leydenschen Kristalle. *Z. phys. Chem.* **305**, 203 (1956).
- DUVE, C. DE: The lysosome. *Sci. Amer.* **208**, 64 (1963).
- ENGELBRETH-HOLM, J. G., G. TEILUM, and E. CHRISTENSEN: Eosinophilic granuloma of bone — Schüller-Christian's disease. *Acta med. scand.* **118**, 292 (1944).
- FARBER, S.: Nature of solitary or eosinophilic granuloma of bone. *Amer. J. Path.* **17**, 625 (1941).
- FAWCETT, D. W.: The cell. Philadelphia and London: W. B. Saunders Co. 1966.
- FRÜHLING, L., E. SPOECKEL, A. PORTE et A. BRINI: Sur de granulome éosinophilique humain avec formation de cristaux de Charcot-Leyden étudié au microscope électronique. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **155**, 1560 (1961).
- GÜTHERT, H.: Zur Morphologie des eosinophilen Granuloms des Knochens. *Zbl. allg. Path.* **89**, 388 (1952/53).
- KOEN, E. D., and R. A. WEISMAN: I. Loss of lipids during preparation of amoebae for electron microscopy. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **116**, 309 (1966).
- KLUGE, A.: Lipidablagerungen bei Lymphogranulomatose im Vergleich mit denen bei Lipoidgranulomatose (Hand-Schüller-Christianscher Krankheit). *Klin. Wschr.* **41**, 554 (1963).
- KUTSCHER, W., u. V. VRLA: Über einen Fall von Hand-Schüller-Christianscher Krankheit (Cholesteringranulomatose). *Klin. Wschr.* **27**, 369 (1949).
- LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie, S. 275. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- LICHTENSTEIN, L.: Histiocytosis-X. Integration of eosinophilic granuloma of bone, "Letterer-Siwe" disease and "Schüller-Christian" disease as related manifestation of single nosologic entity. *Arch. Path.* **56**, 84 (1953).
- Histiocytosis-X, eosinophilic granuloma of bone, Letterer-Siwe disease and Schüller-Christian disease. *J. Bone Jt Surg.* **46 A**, 79 (1964).
- MARKERT, J.: Zur Ultrastruktur und Genese Charcot-Leydenscher Kristalle. *Zbl. allg. Path.* **109**, 275 (1966).
- Zur Ultrastruktur des eosinophilen Granuloms des Knochens. *Frankfurt. Z. Path.* **76**, 157 (1967).
- MILLER, F., E. DEHARVEN, and G. E. PALADE: The structure of eosinophil leukocyte granules in rodents and in man. *J. Cell Biol.* **31**, 349 (1966).

- MÜLLER, G., F. LINDLAR u. H. ARRAS: Morphologische und lipidchemische Untersuchungen bei der Letterer-Christianschen Erkrankung. Frankfurt. Z. Path. **73**, 245 (1964).
- RITTER, R. A. jr.: Histiocytosis-X. A case report with electron microscopic observations. Cancer (Philad.) **19**, 1155 (1966).
- ROSSENBECK, H. G.: Chronische disseminierte Histiocytosis-X mit eosinophilen Granulomen in der Schädelkalotte im Zwischenhirn — mit Diabetes insipidus — und in den Lungen. Frankfurt. Z. Path. **77**, 67 (1967).
- TANNHAUSER, S. J.: Lipidoses. New York: Oxford University Press 1950.
- VERCAUTEREN, R.: The properties of the isolated granules from blood eosinophils. Enzymologia **16**, 1 (1953).
- On the cytochemistry of leucocytes. Verh. Kon. vlaam. Acad. geneesk. **71**, 263 (1955).
- WALLACE, B. J., L. SCHENK, H. KAPLAN, and B. W. VOLK: Fine structure of the cerebellum of children with lipidoses. Arch. Path. **80**, 466 (1965).
- WELSH, J.: The genesis of Charcot-Leyden crystals in the eosinophil leukocyte of man. Amer. J. Path. **35**, 1091 (1959).

Priv.-Doz. Dr. W. WESSEL
Pathologisches Institut d. Universität
53 Bonn 1
Postfach