Herausgegeben von G. Klöppel · H. H. Kreipe · W. Remmele

PATHOLOGIE

Begründet von W. Remmele 3. Auflage

Zytopathologie

L. Bubendorf G. E. Feichter E. C. Obermann P. Dalquen



L. Bubendorf \cdot G. E. Feichter \cdot E. C. Obermann \cdot P. Dalquen

Pathologie Zytopathologie Für weitere Bände des Gesamtwerks besuchen Sie www.springer.com/series/5113 Herausgegeben von G. Klöppel · H. H. Kreipe · W. Remmele

Pathologie

Begründet von W. Remmele Dritte, neubearbeitete Auflage

L. Bubendorf · G. E. Feichter · E. C. Obermann · P. Dalquen

Zytopathologie



Werkherausgeber

Prof. em. Dr. Günter Klöppel

TU München, Institut für Pathologie Konsultationszentrum für Pankreas- und Endokrine Tumore Ismaninger Straße 22 81675 München guenter.kloeppel@alumni.uni-kiel.de

Prof. Dr. Hans H. Kreipe

Medizinische Hochschule Hannover (MHH) Zentrum Pathologie und Rechtsmedizin Carl-Neuberg-Straße 1 30625 Hannover *kreipe.hans@mh-hannover.de*

Prof. em. Dr. Wolfgang Remmele

Institut für Pathologie Kliniken der Landeshauptstadt Ludwig-Erhard-Straße 100 65199 Wiesbaden *remmelewwi@aol.de*

Autoren

Prof. Dr. Lukas Bubendorf

Institut für Pathologie Universitätsspital Basel Schönbeinstrasse 40 4031 Basel, Schweiz *lbubendorf@uhbs.ch*

Prof. Dr. Georg E. Feichter

Institut für Pathologie Universitätsspital Basel Schönbeinstrasse 40 4031 Basel, Schweiz gukfeichter@bluewin.ch

PD Dr. Ellen C. Obermann

Institut für Pathologie Universitätsspital Basel Schönbeinstrasse 40 4031 Basel, Schweiz *EObermann@uhbs.ch*

Prof. em. Dr. Peter Dalquen

Institut für Pathologie Universitätsspital Basel Schönbeinstrasse 40 4031 Basel, Schweiz *peter.dalquen@unibas.ch*

ISBN 978-3-642-04561-5

e-ISBN 978-3-642-04562-2

DOI 10.1007/978-3-642-04562-2

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de abrufbar.

© 2011 Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrags, der Entnahme von Abbildungen und Tabellen, der Funksendung, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland vom 9. September 1965 in der jeweils geltenden Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtsgesetzes.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Produkthaftung: Für Angaben über Dosierungsanweisungen und Applikationsformen kann vom Verlag keine Gewähr übernommen werden. Derartige Angaben müssen vom jeweiligen Anwender im Einzelfall anhand anderer Literaturstellen auf ihre Richtigkeit überprüft werden.

Einbandgestaltung: deblik Berlin

Herstellung und Satz/Repro: Fotosatz-Service Köhler GmbH - Reinhold Schöberl, Würzburg

Gedruckt auf säurefreiem Papier

Springer ist Teil der Fachverlagsgruppe Springer Science+Business Media (www.springer.com)

Geleitwort

Rudolf Virchow gilt zu Recht als Begründer der modernen Pathologie. Er war der Auffassung, die Diagnose "Krebs" dürfe nur beim "Nachweis von Epithel an ungehörigem Orte" gestellt werden. Den neoplastischen Veränderungen des wuchernden Epithels maß er keine diagnostische Bedeutung bei. Das führte dazu, dass er den Kehlkopfkrebs von Kaiser Friederich III. auf Grund fehlender Invasion als "Pachydermia verrucosa" deutete. Sein Kollege, Heinrich Wilhelm Waldeyer, der damals als Anatom in Berlin tätig war, untersuchte den Auswurf des prominenten Patienten unter dem Mikroskop und kam auf Grund der zytologischen Epithelveränderungen zum Schluss, es handele sich um einen Krebs. In seinen Erinnerungen heißt es: "Ich bekenne, dass ich nach dem von Virchow beschriebenen Befunde an der Diagnose "Krebs". nicht mehr gezweifelt und diese anatomische Diagnose auch bestimmt ausgesprochen hätte." Die Autopsie, die er mit R.Virchow zusammen durchführte, ergab ein metastasierendes Kehlkopfkarzinom. Der Autopsiebericht Virchows endet mit dem lapidaren Satz: "Einer Epikrise bedarf es nicht."1

Die Auffassung Virchows, nur der Nachweis der Invasion erlaube die Diagnose eines Karzinoms, hat sich ein Jahrhundert erhalten und gerade in Deutschland zu einer ungebührlichen Marginalisierung der Zytopathologie geführt. Ich bin deshalb glücklich, dass die Herausgeber des Handbuchs einen Band der Zytopathologie gewidmet haben und damit die Eigenständigkeit und Bedeutung der Zytopathologie im Rahmen unseres Gesamtfachs Pathologie betonen.

Der Leser wird feststellen, dass der Zytopathologe nicht nur zwischen "Gut und Böse" unterscheiden kann, sondern dass die gleichen immunzytochemischen, molekularbiologischen und genetischen Untersuchungen, wie wir sie aus der Histopathologie kennen, auch erfolgreich an zytologischen Präparaten durchgeführt werden können.

Im Übrigen muss man kein Prophet sein, um bei den gegenwärtigen Fortschritten der molekularbiologischen Forschung gerade in der Tumordiagnostik eine weitere Minimierung des Untersuchungsgutes vorauszusagen. Was diagnostisch mit der Autopsie begann, wird bezüglich der Diagnose vieler Tumoren bei der Feinnadelaspiration enden.

Doch wäre es falsch, die Zytopathologie gegen die Histopathologie (oder umgekehrt) auszuspielen. Keine Methode ist grundsätzlich besser als die andere. Beide Methoden haben Vorteile und Grenzen und sind daher "gleichgewichtige" Partner auf dem Weg zu einer optimalen Diagnose und gehören in unser gemeinsames Haus "Pathologie".

Basel, Herbst 2010

Prof. em. Michael J. Mihatsch²

¹ Georg Dhom (2001) Geschichte der Histopathologie. Springer Verlag, Heidelberg New York, Seite 156–159 und 320–329.

² 1988–2007 Ordinarius für Pathologie und Vorsteher des Instituts für Pathologie, Universitätskliniken Basel.

Vorwort der Werkherausgeber

Der vorliegende Band zur Zytopathologie ist in die dritte Auflage des Gesamtwerkes "Pathologie" eingegliedert worden. Der Vorgänger dieses Bandes wurde der zweiten Auflage der "Pathologie" als Ergänzungsband hinzugefügt. Somit handelt es sich streng genommen bei der jetzt vorliegenden Zytopathologie um eine zweite, nun aber neubearbeitete Auflage.

Ausgehend von der Erstauflage wurde die Neubearbeitung der Zytopathologie von Lukas Bubendorf, Georg E. Feichter, Ellen C. Obermann und Peter Dalquen vorgenommen. Dabei kam es zu keiner Hinzunahme neuer Themen, aber zu ihrer Vertiefung und Neugestaltung, wo immer es nötig war. Dies hat die Qualität des Bandes weiter verbessert und seine Position als Standardwerk in der deutschsprachigen Literatur zur Zytopathologie verstärkt.

Der vorliegende Band umfasst in einem ersten Bereich die zytopathologischen Grundlagen. Die organbezogene Zytopathologie bildet einen zweiten Bereich, während ein dritter Bereich die zytologische Methodik zum Inhalt hat. Natürlich werden auch Schwerpunkte gesetzt, die sich an der Praxis der Zytopathologie orientieren. So wurde zum Beispiel der Zytopathologie der Schilddrüse besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Andererseits finden sich aber auch grundlegende Informationen in jenen Bereichen, die klassischer Weise nicht zur Domäne der Zytopathologie gehören wie der Gastrointestinaltrakt, oder nicht mehr gehören, wie die Mammadiagnostik, wo die stanzbioptische Histologie heute vorrangig ist. Schließlich enthalten die wichtigsten allgemeinen Kapitel, so das Tumorkapitel, alle zum Verständnis der Tumorgenese und Tumorzellmorphologie notwendigen Informationen.

Unser Dank gilt den vier Autoren des Zytopathologie-Bandes. Sie haben mit viel Mühe, Zeitaufwand und Sorgfalt das Zustandekommen des Gesamtwerkes ermöglicht. Wenn wir unter den vier Autoren Herrn Peter Dalquen hervorheben und besonders danken möchten, dann deswegen, weil er die Zusammenstellung der geschriebenen Kapitel und ihre Durchsicht auf sich genommen hat und damit zur treibenden Kraft bei der Drucklegung der Zytopathologie wurde. Danken möchten wir außerdem Frau Martha Berg und Frau Blasig als Mitarbeiterinnen des Springer Verlags für ihren intensiven Einsatz beim Zustandekommen dieses Bandes.

München Hannover Wiesbaden im Oktober 2010 Günter Klöppel Hans H. Kreipe Wolfgang Remmele

Vorwort zur Neuauflage

In den zehn Jahren seit Erscheinen der ersten Auflage haben sich die Methoden und damit die diagnostischen Möglichkeiten der Zytologie, aber auch die Klassifikation der Tumoren weiter fortentwickelt. Deshalb drängten sich Ergänzungen und eine Umarbeitung weiter Teile des Buches auf. So gehören immunzytochemische und molekularbiologische Untersuchungen mittlerweile zu den Standardmethoden eines zytologischen Labors, ohne die eine differenzierte Tumordiagnostik als Voraussetzung einer gezielten Therapie nicht denkbar ist. Auch manche Methoden der Aufarbeitung zytologischer Proben, insbesondere die Zellblock-Technik und die flüssigkeitsbasierten Methoden mussten neu bewertet werden.

Große Teilgebiete der Zytologie befinden sich im Umbruch. Die Mamma- und Prostatazytologie haben vielerorts gegenüber der Stanzbiopsie an Bedeutung verloren, während die transendoskopische ultraschallgesteuerte Feinnadelaspiration den Zytopathologen vor ganz neue Herausforderungen stellt. Neue molekularbiologische Marker und die HPV-Impfung eröffnen der gynäkologischen Untersuchung zur Krebsfrüherkennung neue Wege. Wir betrachteten es als unsere Aufgabe, diesen Entwicklungen gerecht zu werden, ohne etabliertes Wissen preiszugeben, und die ganze Breite des möglichen Einsatzes der Zytologie darzustellen, darunter auch die Einsatzmöglichkeiten in Organgebieten, in denen sie gegenwärtig seltener zum Einsatz gelangen wie in der Diagnostik von Lymphomen und Sarkomen. Um dem Buch eine möglichst breite Anwendung in der Praxis zu sichern, wurden auch seltenere Anwendungsbereiche wie die Zytologie des Hodens und der Hodentumoren sowie des Auges ausführlicher als in der ersten Auflage dargestellt.

Unser wichtigstes Bestreben war, unser Buch im Vergleich zur ersten Auflage benutzerfreundlicher zu gestalten. Die Abbildungen sind jetzt direkt in den Text eingefügt. Die Abbildungen der ersten Auflage wurden durch weitere Abbildungen ergänzt. Wir verzichten auch in der neuen Auflage mit wenigen Ausnahmen auf histologische Abbildungen, da die Histologie der Tumoren in den anderen Bänden des von Klöppel, Kreipe und Remmele herausgegebenen mehrbändigen Werkes der PATHOLO-GIE (3. Auflage) ausführlich illustriert wird. Hinsichtlich seltener Befunde und zur Einarbeitung in die Zytopathologie empfehlen wir in Ergänzung zu den Abbildungen des Buches über das Internet zugängliche Bilddateien wie die der European Federation of Cytology Societies (http://www.efcs.eu/index) und der Technischen Universität München (http://www.zytologie.de/bilder/) sowie unseren Zytologiekurs auf Pathorama (http://pathorama.ch/).

Ausgehend vom Text der ersten Auflage erfolgte die Umarbeitung unter Federführung von Peter Dalquen. Wir betrachten das Buch als Gemeinschaftswerk aller ärztlichen und zytotechnischen Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Zytologischen Abteilung des Instituts für Pathologie am Universitätsspital Basel. Bei der Durchsicht und Überarbeitung des Methoden-Kapitels halfen Brigitte Kleiber (MIAC), Betty Baschiera und Bruno Grilli. Thomas Schürch danken wir für die stete Hilfsbereitschaft bei der Herstellung der Photos. Besonders danken möchten wir für die kritische Durchsicht einiger uns wichtig erscheinender Kapitel: Guido Sauter/UKE Hamburg (Tumorbiologie), Michael J. Mihatsch/Basel (BK-Nephropathie), Karl H. Bohuslavizki/Hamburg (Schilddrüse), Günter Klöppel (neuroendokrine Tumoren), Hans Kreipe (Mamma), Nina Hurwitz und Stefan Dirnhofer/Basel (Lymphome), Stefan Frank/Basel (Zentralnervensystem) sowie Jozef Zustin/UKE Hamburg (Stützund Weichteilgewebe). Schließlich gilt unser Dank auch Wolfgang Remmele, der über mehrere Jahre hinweg mit sanftem Zuspruch unsere Motivation stützte. Danken möchten wir auch den Mitarbeitern des Springer Verlags, insbesondere Martha Berg, Ellen Blasig und Peter Grumbach für ihre Unterstützung bei der Fertigstellung und Drucklegung des Manuskripts.

Basel, im Oktober 2010

L. Bubendorf G. Feichter E. Obermann P. Dalquen

Vorwort zur Vorauflage

Die Zytopathologie hat sich in den vergangenen 30 Jahren zu einer eigenständigen Disziplin innerhalb der klinischen Pathologie entwickelt. In vielen Fällen ist sie die einzige Methode, die zur Diagnose führt. Zytologie und Histologie mögen zwar gelegentlich als konkurrierende Methoden auftreten, doch hat sich heute weitgehend die Einsicht durchgesetzt, dass die Kombination beider Methoden in vielen Fällen die Sensitivität der morphologischen Untersuchungen erhöht und die diagnostische Sicherheit steigert, zumal alle modernen immunzytochemischen, molekularbiologischen und sonstigen Techniken auch an zytologischen Präparaten mit Erfolg anwendbar sind. Der in den letzten Jahren zu beobachtende Trend, die Diagnostik so weit als möglich in den ambulanten Bereich zu verlagern und die Patienten, wo immer möglich, nur zur Behandlung ins Krankenhaus einzuweisen, wird noch mehr als bisher dazu zwingen, immer differenziertere Diagnosen an immer kleineren Gewebsund Zellproben zu stellen. Die Anforderungen an die Zytologie werden zunehmen. Es war daher nur folgerichtig, dass W. Remmele seit längerem daran dachte, einen Ergänzungsband "Zytopathologie" zu seinem Lehr- und Nachschlagewerk "Pathologie" herauszugeben.

Unser Entschluss, ein Zytologiebuch zu schreiben, reifte aber lange bevor wir uns darüber Gedanken machten, in welchem Rahmen es einmal erscheinen soll. Der Springer-Verlag vermittelte den Kontakt zu Herrn Remmele. Wir fanden uns rasch, da unser Konzept in das Konzept seines Werkes passte. Wir verdanken ihm viele Anregungen. Seine Offenheit für unsere Ideen und seine Hilfsbereitschaft fanden wir stimulierend.

Wie kamen wir dazu, ein weiteres Zytologiebuch zu schreiben? Bei Zytologie-Seminaren mussten wir immer wieder feststellen, dass ein umfassendes deutschsprachiges Zytologiebuch fehlt, in dem die zytologischen Befunde nicht isoliert, sondern als Mosaikstein der klinischen und pathologischen Diagnostik betrachtet und dargestellt werden. Viele Teilnehmerinnen und Teilnehmer unserer Kurse scheiterten in ihrem zytodiagnostischen Bemühen schon bei der Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials. Die zytotechnischen Assistentinnen und Assistenten vermissten, obwohl es eine ganze Reihe hervorragender englischer Bücher gibt, eine auf ihre Bedürfnisse zugeschnittene Arbeitsgrundlage. Sie vermissten ein Buch, in dem auch für sie verständlich die theoretischen Voraussetzungen der Zytodiagnostik dargestellt werden.

Nach unserer Überzeugung ist in einer gut geführten zytologischen Abteilung eine enge Zusammenarbeit zwischen Ärzten und ZTA erforderlich. Daher richtet sich unser Buch gleichermaßen an Ärzte und ZTA. Wir versuchten, Anglizismen zu vermeiden, wo gut verständliche deutsche Termini zur Verfügung stehen. Da wir aber damit rechnen und hoffen, dass sich unsere Leser auch mit der angelsächsischen Literatur auseinandersetzen, sind die entsprechenden englischen Termini in Klammern hinzugesetzt.

Da auch ZTA über ein gewisses Maß an medizinischem und theoretischem Wissen verfügen müssen, versuchten wir, die wichtigsten klinischen, allgemeinpathologischen und histologischen Tatsachen, soweit wir sie für das Verständnis und für die Interpretation der zytologischen Befunde als notwendig erachten, in die zytologische Darstellung einzubeziehen. Besonderen Wert legten wir auf die Darstellung der immunzytochemischen Methoden; sie gehören unseres Erachtens heute auch in der Zytologie zum täglichen Rüstzeug. Überschneidungen mit anderen Bänden des Remmele'schen Lehr- und Nachschlagewerkes waren nicht immer zu vermeiden, da das Buch auch als Einzelband benutzbar sein soll. Textgliederung, Hervorhebung der zytologischen Kriterien und Querverweise sollen die Benutzung des Buches als Lehr- und Nachschlagewerk erleichtern. Bei der Darstellung der Labortechniken scheuten wir nicht vor einer einseitigen Wertung der Präparations-, Fixations- und Färbetechniken zurück, weil wir überzeugt sind, dass nur eine durch Erfahrung abgesicherte und wissenschaftlich fundierte Zytodiagnostik zum Erfolg führt.

Die einzelnen Kapitel wurden von den verschiedenen Spezialisten unseres Instituts kritisch gegengelesen: L. Bubendorf (auch Mitverfasser des Prostata-Kapitels), F. Gudat und N. Hurwitz (Lymphknoten), G. Jundt (Stützund Weichteilgewebe), M. Oberholzer (Schilddrüse), G. Sauter (Harntrakt), L. Terraciano (Magen-Darm-Trakt), M. Tolnay (Liquor cerebrospinalis und Hirntumoren) und J. Torhorst (Tumorbiologie, Mamma). J.P. Obrecht (früher Leiter der Abteilung Onkologie, Kantonsspital Basel) trug wesentlich zum Konzept des Lymphknotenkapitels bei. M. Solèr (Abteilung Pneumologie des KBS) verdanken wir Anregungen zum Kapitel "Respirationstrakt".

Viele wertvolle Anregungen verdanken wir auch externen Kollegen und ZTA: W. Feiden (Liquor, Hirntumoren), H. Flenker (Allgemeine und Gynäkologische Zytologie), R. Goertchen (Harntrakt, Lymphome), P. Leonhard (Respirationstrakt), H.-A. Müller (Verdauungstrakt, Prostata), E. Müller-Leibenger und A. Wilhelm (Zytologische Methoden), R. Schäffer (Ergüsse), U. Schenck (Schilddrüse), H. Schöndorf (Mamma) und J. Willems (Stütz- und Weichteilgewebe). - Wir danken auch allen Kollegen, die uns Abbildungen für den Atlasteil überließen, ganz besonders Peter Spieler/St. Gallen für seine spontane und großzügige Hilfsbereitschaft. Zum Zustandekommen des Buches trugen die ZTA der Zytologischen Abteilung des Basler Instituts für Pathologie wesentlich bei. Das Methoden-Kapitel hätten wir ohne die Hilfe von Betty Baschiera, Sylvia Delfs, Bruno Grilli und Brigitte Kleiber nicht schreiben können. Bei der Ausarbeitung des Liquor-Kapitels wirkte S. Delfs von Anfang an mit. Susann Gobat, Christiane Hamm, Michelle Herzog, Dagmar Maus, Sandrin Vogel und Blanka Theiss halfen uns bei der Materialsammlung für die zytologischen Abbildungen und prüften weite Teile des Manuskriptes auf Textverständlichkeit. Bei den photographischen Arbeiten unterstützten uns Cora Bauer und Hans-Ruedi Zysset.

Unser besonderer Dank gilt Herrn Klemens Schwind für die freundliche und geduldige Beratung und Hilfe bei der Herstellung des Buches.

Wir widmen das Buch unseren Lehrern Klaus Goerttler (Feichter) und Paul Grétillat (Dalquen). Für Goerttler gehörte die allgemeine Pathologie zum notwendigen Rüstzeug des Zytopathologen; er wollte die zytologischen Befunde nicht nur beschreiben, sondern verstehen und war deshalb stets Zusatzmethoden gegenüber aufgeschlossen, die ihm dabei halfen. Grétillat machte die Zytologie, die zu seiner Zeit noch viele als "Kunst" und mit Intuition betrieben, durch Aufstellung klarer und nicht nur in Schlagworten fassbaren Kriterien lehrbar. Beiden Ansätzen versuchten wir gerecht zu werden.

Basel, im November 1999

G. Feichter P. Dalquen

Inhalt

1	Funktionelle Anatomie der Zelle 1
2	Grundlagen der Tumorbiologie 19
3	Zytologische Tumorkriterien 33
4	Häufig vorkommende Zellen und Zellprodukte
5	Krankheitserreger 59
6	Ovarien 81
7	Cervix uteri und Vagina
8	Endometrium
9	Vulva
10	Brustdrüse
11	Männliches Genitale
12	Harntrakt
13	Respirationstrakt
14	Seröse Höhlen
15	Gelenke

16	Magen-Darm-Trakt
17	Speicheldrüsen 377
18	Pankreas
19	Leber und Gallenwege
20	Schilddrüse
21	Nebenschilddrüse
22	Nebenniere 463
23	Haut und Subkutangewebe
24	Lymphknoten
25	Zentralnervensystem
26	Auge
27	Stütz- und Weichteilgewebe
28	Zytologische Methoden
Sac	hverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

A	Arbeitsvorschrift	CALLA	Common acute lymphoblastic leukemia
AAH	Atypische adenomatöse Hyperplasie		antigen
ABC	Avidin-Biotin-Komplex-Methode	CBCC	Zentroblastisch-zentrozytisches
ACTH	Adrenokortikotropes Hormon		Lymphom (= follikuläres Lymphom)
ADCA	Adenokarzinom	CD	Cluster definition
ADP	Adenosindiphosphat	CEA	Karzinoembryonales Antigen
AEC	Amino-Äthyl-Carbazol	CIN	Zervikale intraepitheliale Neoplasie
AFP	Alpha-Fetoprotein	CIS	Carcinoma in situ
AgNOR	Versilberungsfärbung der "nucleolar	СК	Zytokeratin
U	organizer regions"	CLL	Chronische lymphatische Leukämie
AGUS	Atypic glandular cells of undetermined	CMV	Zytomegalievirus (auch ZMV)
	significance	COP	Chronic organizing pneumonia
AIDS	Aquired immune deficiency syndrome	СТ	Computertomographie
AIL	Angio-immunoblastisches Lymphom		
AILD	Angio-immunoblastisches Lymphom	DAB	Diamino-Benzidin-Tetrachlorid
	mit Dysproteinämie	DCC	Dextran-coated charcoal assay
AIN	Anorektale intraepitheliale Neoplasie	DCIS	Duktales Carcinoma in situ der Mamma
AIS	Adenocarcinoma in situ	DES	Diäthylstilböstrol
ALK	"Anaplastistic lymphoma kinase"	DHT	Dihydrotachysteron
AK	Antikörper	DI	DNA-Index (daraus abgeleitet
ANCA	Antineutrophil cytoplasmic autoanti-		DNA-Ploidie)
	bodies	DMF	Dimethylformamid
APAAP	Alkalische-Phosphatase-anti-alkalische-	DNA	Desoxyribonukleinsäure
	Phosphatase-Komplex		,
APUD	Amine precursors uptake and	EAA	Exogen-allergische Alveolitis
	decarboxylation	EBV	Epstein-Barr-Virus
ATLL	Adult(s) T-Zell-Lymphom/Leukämie	EGFR	Epidermal growth factor receptor
ATP	Adenosintriphosphat	EIA	Enzyme immunoassay
	1 1	ELISA	Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay
BA	Bürstenabstrich	EM	Elektronenmikroskopie
BAL	Bronchoalveoläre Lavage	EMA	Epitheliales Membran-Antigen
BALT	Bronchus-associated lymphatic tissue	ER	Östrogenrezeptor
BAK	Bronchioloalveoläres Karzinom	ERCP	Endoskopische retrograde Cholangio-
BCG	Bacillus Calmette-Guérin		pankreatikographie
BKV	Polyomavirus vom BK-Typ	EREIA	Estrogen-receptor-enzyme Immunoassay
BL	Bronchiallavage	EUS-FNA	Endoskopische ultraschall-gesteuerte
BO	Bronchiolitis obliterans		Feinnadelaspiration
BOOP	Bronchiolitis obliterans organizing		1
	pneumonia	FA	Fibroadenom
BPH	Benigne Prostatahyperplasie	FACS	Fluorescence activated cell sorting
BRE	Bloom-Richardson-Elston-Grading	FBZ	Flüssigkeitsbasierte Zytologie
BS	Bronchialsekret		(= "Dünnschicht-Zytologie")
BZ	Basalzelle	FDA	Food and Drug Administration (USA)
			-

FDZ	Follikuläre dendritische Zelle	MALT	Mucosa-associated lymphatic tissue
FGA	Frischgewebsabstrich	mAK	Monoklonaler Antikörper
FIGO	Federation Internationale de Gynecologie	MAK	Mikrosomale Autoantikörper
	et des Obstetriques	MDT	Magen-Darm-Trakt
FNA	Feinnadelaspiration	MDR	Multi drug resistance
FNH	Fokale noduläre Hyperplasie (der Leber)	MEN	Multiple endocrine Neoplasie
FSH	Follikelstimulierendes Hormon	ME	Mikrofilament
1011	i olikelstillalerendes Hormon	MFH	Malignes fibroses Histiozytom
HBSE	Harnblasenspülflüssigkeit	MGG	Mangnes Horoses Histozytom May Grünwald Giemea Färbung
	Hanatozalluläras Adanam	MD	Marbus Deget
LICC		MDU	Molous Paget
HCC	Hepatozeilulares Karzinom	MPH	Makrophagen
HCG	Humanes Choriongonadotropin	MRCP	Magnetresonanz-Cholangiopankreatiko-
HCV	Hepatitis-C-Virus		graphie
HGD	Hochgradige Dysplasie/high-grade	MRI	Magnetic resonance imaging (= MRT)
	dysplasia	MRT	Magnetresonanztomographie
HHV8	Humanes Herpesvirus 8	MT	Mikrotubulus/Mikrotubuli
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus		
HMB45	Human melanoma black 45	NECA	Neuroendokrines Karzinom
HLA	Histokompatibilitätsantigen	NEN	Neuroendokrine Neoplasie
HLA-DR	HLA-gene-locus related	NOR	Nucleolar organizer regions
HP	Helicobacter pylori	NOS	"Not otherwise specified"
HPV	Humanes Papilloma-Virus	NET	Neuroendokriner Tumor
HSV	Herpes-simplex-Virus	NK	Natürliche Killerzellen
HTLV1	Humanes T-Zell-Leukämie-Virus 1	NSE	Neuronspezifische Enolase
		NSIP	Non-specific interstitial pneumonia
IBL	Immumoblastisches Lymphom	11011	iton opeenie interstituu piteunioinu
ICC	Immunzvtochemie	ОН	Ovulationshemmer
IE	Intermediärfilament(e)	011	Ovulationshelliner
	Interdigitiorendo Zello	$n \Lambda V$	Dolyklonalor Antikörnor
IDZ	Interdigiterende Zene	рак	Porykionaler Antikorper
IGF		PAP	Der Abstrich
IL		Рар	Pap-Adstrict
IIP HID (HID	Idiopathische interstitielle Pneumonie	Рарг	Papanicolaou-Farbung
IUD/IUP	Intrauterine device/Intrauterinpessar	PAS	Periodic-acid-Schiff-reaction (Farbung)
ISSVD	International Society for the Study	PBZ	Parabasalzelle
	of Vulvar Disease	PCNA	Proliferative cell nuclear antigen
IZ	Intermediärzelle	PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase- Kettenreaktion)
JCV	Polyomavirus vom JC-Typ	PECA	Plattenepithelkarzinom
		PIN	Prostatic intraepithelial neoplasia
KBR	Komplement-Bindungsreaktion	PLAP	Plazentale alkalische Phosphatase
kD	Kilo-Dalton	PLE	Pleuraerguss
KI	Karvopyknoseindex	PLL	Prolymphozyten-Leukämie
		PNET	Primitiver neuroendokriner Tumor
LCA	Leucocyte-common antigen	PR	Progesteronrezentor
LCIS	Lobuläres Carcinoma in situ/lobuläre	PSA	Prostata-spezifisches Antigen
1010	Neoplasie (der Mamma)	ртан	Phosphotungstic acid hematoxylin
LONEC	Large cell neuroendocrine carcinoma	1 1/111	procedure (Phosphor Wolframsäure
IDH	Laktatdebydrogenase		Hämatovylin Färbung)
LDH LE Zellen	Laktatuenyulogenase		Hamatoxyim-Faibuilg)
LE-Zellen	Lupus erythematodes-Zellen	DA	DL
LGD	Leicht- bzw. geringgradige Dysplasie/	KA	Reumatoide Arthritis
	low-grade dysplasia	KF DIA	Ruckflussvolumen (der BAL)
LH	Luteinisierendes Hormon	KIA	Kadioimmunoassay
LM	Lichtmikroskop	RLBA	Radioliganden-Bioassay
LMS	Leiomyosarkom	RMS	Rhabdomyosarkom
LOH	Loss of hetrogosity	RER	Raues endoplasmatisches Retikulum
LZ	Langhans-Zelle	RES	Retikuloendotheliales System

Abkürzungsverzeichnis

RNA RSV	Ribonukleinsäure Respiratory syncytial virus	TRAK TRH TSH	TSH-Rezeptor-Antikörper Thyreotropin-releasing hormone Thyroid stimulating hormone
SD	Schilddrüse	TUR	Transurethrale Resektion
SER	Glattes ("smooth") endoplasmatisches		
	Retikulum	UICC	Union Internationale contre le Cancer
SIL	Squamous intraepithelial lesion	UIP	Usual interstitial pneumonia
SLL	Small lymphocytic lymphoma	Upm	Umdrehungen pro Minute
SMA	Smooth muscle actin	-	0
SP	Sputum	VAIN	Vaginale intraepitheliale Neoplasie
SPF	S-Phasen-Fraktiuon	VEGF	Vasoendothelial growth factor
SPP	Saure Prostata-Phosphatase	VIN	Vulvar intraepithelial neoplasia
SSF	Schnellschnitt-Spülflüssigkeit	VLDLP	Very low density lipoprotein
SZ	Superfizialzelle	VZV	Varizella-Zoster-Virus
TAK	Thyreoglobulin-Autoantikörper	WAF1	Wildtype p53 activated fragment 1
TBFNA	Transbronchiale Feinnadelaspiration	WF	Waschflüssigkeit
TCR	T-Zell-Rezeptor		0
TCRR	T-Zell-Rezeptor-Rearrangement	ZMV	Zytomegalie-Virus (= CMV)
TGF	Transforming growth factor	ZN	Ziehl-Neelsen-Färbung
TLI	Thymidin-Labeling-Index	ZNS	Zentrales Nervensystem
ТМА	Thrombotische Mikroangiopathie	ZTA	Zytotechnische Assistentin/zytotech-
TPA	Tissue polypeptide antigen		nischer Assistent

Englische Fachausdrücke der zytologischen Deskription

Im folgenden wird lediglich eine Auswahl derjenigen Termini wiedergegeben, die in englischen zytologischen Beschreibungen immer wiederkehren und auch in der deutschsprachigen zytologischen Literatur verwendet werden.

assay	Untersuchungsmethode, Prüfungsverfahren
cartwheel pattern	Wagenradmuster (beim MFH)
clear cell	helle Zelle (hellzellig)
clearing, nuclear	heller Kernhintergrund
cleaved nuclei	gespaltene, gekerbte Kerne
clumping	Verklumpung des Kernchromatins
cluster	in Gruppen dicht beieinander liegende, aber nicht zusammenhängende Zellen
crowding	Überlagerung (nuclear crowding Kernüberlagerung)
cytospin	Zytozentrifugat
feathering	federförmig ausgefranste Zellverbände (beim zervikalen Adenocarcinoma in situ der Cervix
	uteri)
folding	Falten
ghost cells	Zellschatten
glassy cells	Zellen mit homogenem, "glasigem" Zytoplasma
grooves	Kerben (z. B. papilläres Schilddrüsenkarzinom)
ground glass nuclei	Milchglaskerne
oat cell carcinoma	Haferzellkarzinom
moulding	sich aneinanderschmiegende, sich gegenseitig formende Kerne
sheets	flache Zellverbände, Zelltapeten
storyform pattern	Fußmattenartiges Muster (beim MFH)
twisted nuclei	gewundene Kerne

Kapitel 1

Funktionelle Anatomie der Zelle

1

Inhalt

Einleitung	 •	•	•	 •			•		•	•	•	•		•		•		2
Zellkern		•	•		•	•	•	•	•	•	•	•				•		2
Chromatin	 •		•	 •	•	•	•	•	•	•	•					•	•	2
Kernmembran .		•	•		•	•	•	•	•	•	•	•				•		5
Zellzyklus	 •		•	 •	•	•	•	•	•	•	•					•	•	6
Apoptose	 •	•	•		•	•	•	•	•	•	•	•	•		•	•		8
Nukleolus	 •		•	 •	•	•	•	•	•		•					•		10
Zytoplasma																		11

Zellverbindungen	11
Mitochondrien	12
Endoplasmatisches Retikulum (ER)	13
Golgi-Apparat	14
Lysosomen	15
Äußere Zellmembran (Plasmalemm)	15
Rezeptoren	16
Literatur	18

Funktionelle Anatomie der Zelle

Einleitung

Die Zytopathologie versucht im Unterschied zur Histopathologie nicht an Gewebsfragmenten, sondern an isolierten Zellen Krankheiten, insbesondere Tumoren zu diagnostizieren. Die zytologischen Krankheitskriterien ergeben sich aus Abweichungen von der "normalen" Zellstruktur.

Jede Zelle folgt wie der Gesamtorganismus einem anatomischen Bauplan. Sie besteht aus einer Vielzahl von Strukturelementen wie Zellkern, Zytosol, Zellmembran, Mitochondrien und vielen anderen Organellen (Abb. 1.1), die hinsichtlich ihrer Bedeutung für die Lebensvorgänge Funktionseinheiten des Zellorganismus darstellen. Die einzelnen Elemente stehen untereinander in enger Beziehung, so dass die Veränderung des Funktionszustandes eines Elements Funktion und mikroskopisches Erscheinungsbild anderer Zellbestandteile beeinflusst. Das bedeutet für die Zytodiagnostik, dass sich eine krankhafte



Abb.1.1a-k Anatomie der Zelle nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme gezeichnet: a Zilien mit Mikrotubuli, b Mikrofilamente, c Desmosom, d Mikrofilamente des Zytoskeletts, e Zellkern, f Ribosomen des glatten endoplasmatischen Retikulum, g Golgi-Apparat, h Mitochondrium, i Nukleoporen, k Ergastoplasmaschlauch (raues endoplasmatisches Retikulum)

Zellstörung meist nicht allein an der Veränderung eines Elements, sondern an einem Mosaik von Veränderungen mehrerer Elemente ablesen lässt.

Heute stehen Methoden zur Verfügung, die es erlauben, auch die funktionellen Eigenschaften einzelner Zellelemente zu analysieren. So lassen sich submikroskopische Strukturen und ihre biochemische Zusammensetzung und damit die Funktion einer Zelle *immunzytochemisch* im Lichtmikroskop sichtbar machen. Die Analyse der Kernsubstanz von Tumorzellen mittels *DNA-Zytometrie* und *Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung* (FISH) erlaubt einen unmittelbaren Einblick in die biologischen Eigenschaften einer Zelle.

Der folgende kurze Abriss der funktionellen Zellanatomie soll die notwendige Grundlage für das Verständnis der zytologischen Kriterien und der heute gebräuchlichen morphologischen Untersuchungsmethoden liefern.

Zellkern

Nur das koordinierte Zusammenwirken ihrer Organellen erlaubt es der Zelle, die für die Lebensvorgänge erforderliche Energie zu produzieren, Eiweiße zu synthetisieren, von außen einwirkende Schäden abzuwehren sowie die für die Lebensvorgänge wichtigen genetischen Informationen zu bewahren und an die Tochterzellen weiterzugeben. Steuerzentrale dieser Vorgänge ist der Zellkern [12].

Die meisten Zellen eukaryoter Organismen, d. h. Lebewesen, deren genetisches Material in Zellkernen verdichtet ist, enthalten nur einen Kern. Einige Zellen wie die Megakaryozyten des Knochenmarks und die Urothelzellen des Nierenbeckens besitzen physiologischerweise zwei und mehr Kerne. Andere, wie Erythrozyten und Hornschuppen, verlieren ihren Kern im Laufe der Entwicklung. Der Durchmesser eines Zellkerns beträgt gewöhnlich 5-10 µm, variiert aber von Gewebe zu Gewebe erheblich. Das Verhältnis von Kern- zu Zelldurchmesser (Kern-Plasma-Relation) ist von Zelltyp zu Zelltyp (Plattenepithelzelle/Leberzelle/Lymphozyt) verschieden, aber innerhalb eines bestimmten Zelltyps mehr oder weniger konstant. Auch die Form des Zellkerns ist nur innerhalb einer bestimmten Gewebsart mehr oder weniger festgelegt. Epitheliale Zellen besitzen meist rundliche, mesenchymale, oft spindelige und Granulozyten zwei- oder dreifach gelappte Kerne.

Chromatin

Die für die Lebensvorgänge wichtigen Informationen sind im Genom gespeichert. Datenträger ist die Desoxyribonukleinsäure (DNA). Sie ist auf den *Chromosomen* an Eiweiß gebunden [11] (Abb. 1.2 und 1.3). Die verschiep-Arm Zentromer q-Arm

Schwesterchromatide

Abb. 1.2 Chromosomenpaar (schematisch). Jedes Chromosomenpaar ist nach diesem Muster gebaut, unterscheidet sich aber morphologisch von jedem anderen

denen Bestandteile der Chromosomen (DNA und Proteine) bilden das Kernchromatin, das sich wegen seines hohen DNA-Anteils mit basischen Farbstoffen (z. B. Hämatoxilin) anfärbt.

Alle somatischen Zellen des Menschen sind diploid und enthalten 46 paarweise angeordnete Chromosomen, von denen 44 bei beiden Geschlechtern identisch sind. Das 23. Chromosomenpaar, die Geschlechtschromosomen, bestehen bei der Frau aus zwei gleichen (XX), beim Mann aus zwei verschiedenen Chromosomen (XY). Die haploiden Keimzellen besitzen einen einfachen Chromosomensatz. Die Chromosomen sind nur während der Zellteilung zu unterscheiden. In der Interphase zwischen zwei Zellteilungen bilden sie ein feines fadenförmiges, scheinbar beliebig aufgeknäueltes, in Wirklichkeit teils entspiralisiertes, teils spiralisiertes Chromonem. Das entspiralisierte Euchromatin bildet in der Hämatoxilin-Färbung den strukturarmen grau-blauen Kernhintergrund, das spiralisierte Heterochromatin ist in Form von feinen Chromatingranula oder etwas gröberen Chromozentren sichtbar. Eines der beiden X-Chromosomen der Frau liegt stets in Form von Heterochromatin vor und ist lichtmikroskopisch auch im Interphasenkern als Barr-Körperchen an der Innenseite der Kernmembran ständig sichtbar (Abb. 1.4).

Die Chromosomen bestehen zu gleichen Teilen aus basischen Histonproteinen und sauren Nicht-Histonproteinen. Diese bilden ein Gerüst, dem die DNA in Form eines Doppelstrangs aufliegt. Dabei schlingt sich der DNA-Strang um die kugelförmigen Histone. Ein Histon mit der umgebenden DNA-Schlinge bildet eine als Nukleo-



Abb. 1.3 Aufbau eines Chromosoms nach Hirsch-Kaufmann [8]



Abb. 1.4 Barr-Körperchen (*Pfeil*). Zelle stammt aus einem Vaginalabstrich

som bezeichnete strukturelle Einheit. Nukleosome und internukleosomale DNA wechseln ab. Dadurch gleicht das Chromonem einer Perlenkette.

Die Desoxyribonukleinsäure (DNA: deoxyribonucleic acid) bildet ein Makromolekül, das sich aus zwei spiralförmig umeinander gewundenen Nukleinsäureketten (Doppelhelix) zusammensetzt. Ausgerollt würde die DNA eines durchschnittlich großen Chromosoms 44 mm, jene aller 46 Chromosomen 1,8 m messen! Um in einem Kern mit einem Durchmesser von etwa 6 µm Platz zu finTerritorium ein [3, 14–16]. Die Grundbausteine einer jeden Nukleinsäurekette sind Desoxyribose, Phosphorsäure sowie die vier Basen Adenosin, Cytosin, Guanin und Thymin. Je eine Base bildet zusammen mit einem Molekül Desoxyribose und Phosphorsäure ein *Nukleotid*, die molekulare Grundeinheit eines DNA-Strangs. Den vier Basen entsprechend gibt es vier verschiedene Nukleotide. Jedes Nukleotid des einen DNA-Strangs der Doppelhelix bildet mit einem Nukleotid des anderen DNA-Strangs ein Basenpaar. Dabei gibt es nur zwei Möglichkeiten: Adenin verbindet sich immer nur mit Thymin, Guanin immer nur mit Cytosin. Die DNA-Doppelhelix besteht aus 3×10^9 derartigen Nukleotidpaaren.

Allein durch die nahezu unbegrenzten Variationsmöglichkeiten in der Reihenfolge der Nukleotide entsteht ein Code, der wie ein Strichcode abgelesen werden kann. So ist es möglich, die gesamte genetische Information des Organismus in der DNA eines einzigen Zellkerns zu speichern.

Ein DNA-Abschnitt, der die Synthese eines Proteins kodiert, wird als Gen bezeichnet. Die Aminosäuresequenz des Proteins ist durch die Nukleotidsequenz innerhalb eines Gens vorgegeben. Ein Gen kann aus mehr als 2 Millionen Nukleotidpaaren bestehen. Doch nur etwa 1000 Paare werden für die Herstellung eines Proteins durchschnittlicher Größe benötigt. Die dafür entscheidende Nukleotidsequenz wird als *Exon*, die stummen Grenzzonen werden als *Intron* bezeichnet.

Der Weitergabe der im Genom gespeicherten Information dienen drei sich teils überlappende, teils aufeinander folgende Vorgänge:

• Die DNA-Replikation stellt die Weitergabe der genetischen Information an die Tochterzellen sicher. Beide DNA-Stränge sind in Gegenwart von DNA-Polymerase und anderer Proteine zur Neubildung des komplementären Stranges in der Lage. Die Replikation beginnt damit, dass die beiden Stränge auseinanderweichen. Jeder Strang fungiert dann als Schablone für die Bildung eines neuen komplementären DNA-Moleküls, indem sich sukzessiv an jedes während des Spaltvorgangs freigelegte Nukleotid das komplementäre Gegenstück anlagert. Die DNA-Synthese läuft mit höchster Präzision ab. In weniger als 1 pro 109 Nukleotidanlagerungen kommt es durch Einbau eines falschen Moleküls zur Mutation. Andere Fehler der DNA-Synthese sind noch seltener. Die verschiedenen Möglichkeiten der Mutation sind in Abb. 2.1 (s. S. 22) dargestellt. Die DNA-Replikation ist auch in vitro möglich und wird zur Amplifikation von DNA, z. B. zum Nachweis bestimmter Genmutationen oder Viren benutzt (PCR: Polymerase-Chain-Reaction, s. S. 631).



Abb. 1.5 Transkription einer DNA-Sequenz in mRNA und Translation unter Vermittlung eines Ribosoms von der mRNA über tRNA in eine Aminosäure [8]

- Durch Transkription wird der genetische Code in Ribonukleinsäure (RNA) umgeschrieben (Abb. 1.5). Bei diesem Vorgang wird für die Synthese eines jeden Polypeptids bzw. Proteins eine Anfertigungsschablone aus RNA hergestellt. Bei Bedarf wird die Schablone durch die RNA-Polymerase beim betreffenden Gen angefordert, durch Kopie des Gens zusammengesetzt und in Form der Boten- oder Messenger-RNA (mRNA) ins Zytoplasma gebracht. Zur RNA-Synthese fährt die Polymerase die gesamte DNA-Kette ab und sucht das zu kopierende Gen. Sie erkennt den Beginn des Gens an einer bestimmten Nukleotidsequenz, dem Promoter, und sein Ende an einer anderen Nukleotidsequenz, dem Terminator. Die Transkription kann durch Bindung eines Repressorproteins an den Promoter blockiert werden. Während des Transkriptionsvorgangs wandert das Polymerasemolekül über den aktivierten Teil des DNA-Strangs. Dabei wird nacheinander jedes einzelne Nukleotid freigelegt, so dass sich ein passender Paarling aus der Kernmatrix an den allmählich wachsenden RNA-Strang anlagern kann. Für jedes Nukleotid der DNA wird ein Ribonukleotid (Guanin, Cytosin, Uracil und Adenin) komplementär in die neu entstehende RNA-Kette eingesetzt. Die RNA besteht also wie die DNA aus einer linearen Sequenz von Nukleotiden, doch mit zwei Unterschieden:
 - Der Zucker-Phosphat-Teil enthält Ribose anstelle von Desoxyribose und
 - Uracil tritt an die Stelle der Thyminbase, das aber wie diese zur Paarbildung mit Adenin f\u00e4hig ist.

Weil immer nur einer der beiden DNA-Stränge transkribiert werden kann, trennt sich die DNA-Doppelhelix wie ein Reißverschluss in ihre beiden Stränge und gibt das eben zu kopierende DNA-Nukleotid frei, um sich sofort nach dessen Transkription in ein RNA-

1

4

Nukleotid wieder zu schließen (s. Abb. 1.5). Bei der Transkription wird zunächst die gesamte Nukleotidsequenz des Gens (Exon + Intron) in ein RNA-Molekül umgeschrieben. Doch bevor die RNA den Kern verlässt, werden alle dem Intron entsprechenden Teile enzymatisch abgespalten ("RNA-Splicing"). Erst dann ist die RNA-Schablone für die Synthese des Proteins fertig, das der in der DNA-Sequenz verschlüsselten Aminosäuresequenz entspricht. Die mRNA gelangt durch die Nukleoporen zu den Ribosomen und steht dort für die Synthese des betreffenden Proteins zur Verfügung. Nur die als Euchromatin vorliegenden entspiralisierten Abschnitte eines DNA-Strangs können transkribiert werden. Der Anteil an entspiralisierter DNA ist der Transkriptionsaktivität direkt proportional. Das Heterochromatin, so auch das in der Interphase als Barr-Körperchen sichtbare zweite X-Chromosom der Frau, steht der Transkription nicht zur Verfügung.

Die Translation ist die Übersetzung der in der mRNA gespeicherten Information in eine Sequenz aus tRNA-Sequenzen und damit eine Vervielfältigung der für die Peptidsynthese notwendigen Schablonen (s. Abb. 1.5). Je drei Nukleotide auf dem mRNA-Strang bilden ein Kodon (= Triplet), das den Schlüssel zum Einbau einer Aminosäure in ein Peptid enthält. Jedes tRNA-Molekül enthält als Antikodon eine Sequenz von drei Nukleotiden, die mit einem korrespondierenden Triplet der mRNA eine Paarbildung eingehen und dabei die durch das Triplet vorgegebene Aminosäure auf die wachsende Peptidkette übertragen kann. Die Translation ist nur unter Vermittlung eines Ribosoms, eines großen Proteinkomplexes möglich, das während des Translationsvorgangs von einem zum anderen Ende des mRNA-Strangs wandert und so ein Triplet nach dem anderen abliest. Die mRNA enthält ein Triplet (AUG = Startkodon), das keine Aminosäure kodiert, sondern nur den Startpunkt für den Translationsvorgang angibt. Ein weiteres nichtcodierendes Triplet (UAG, UAA oder UGA = Stoppkodon) markiert das Ende des Translationsvorgangs. Mehrere Ribosomen (= Polyribosom) können gleichzeitig wie auf einer Kette aufgereiht die mRNA abtasten, was die Eiweißsynthese beschleunigt. An den Transkriptions- und Translationsvorgängen sind zahlreiche Enzyme beteiligt. Da jedes Enzym nur relativ substratspezifisch ist, kommt es bei all diesen Prozessen immer wieder zu Fehlern, die sich auf die Funktion der Zelle auswirken können. Die Fehlerrate steigt mit der Transkriptions- und Translationsrate. Sie ist in rasch wachsenden Geweben besonders hoch.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Aus den dargestellten submikroskopischen Vorgängen auf DNA- und chromosomaler Ebene ergibt sich für das mikroskopische Erscheinungsbild einer Zelle:

- Das Kernchromatin ist die Visitenkarte jeder Zelle. Seine Menge, gemessen an der Zellgröße, gibt Auskunft über den DNA-Gehalt. An seiner Struktur, d. h. an den mengenmäßigen Anteilen von Eu- und Heterochromatin und deren Verteilung innerhalb des Zellkerns, die den Anteil an transkriptorisch aktiver und inaktiver DNA widerspiegeln, lässt sich die Aktivität einer Zelle ablesen.
- Die Transkription geschieht unter dem Einfluss teils organspezifischer Transkriptionsfaktoren. Diese sind immunzytochemisch nachweisbar und werden bei Metastasen zur Bestimmung des Primärtumors eingesetzt. Beispiele: TTF1 (Lungen- und Schilddrüsenkarzinome), p63 (Plattenepithelkarzinome), Cdx2 (intestinale Karzinome).
- Anhand des Barr-Körperchens kann das Geschlecht bestimmt werden.

Kernmembran

Ein funktionell so komplexes Gebilde wie die Zelle benötigt eine Struktur, die zugleich Trennungen und Verbindungen zwischen den einzelnen Kompartimenten herstellt und einen geregelten Ablauf der vielen Einzelfunktionen ermöglicht. Diese Struktur wird durch ein System semipermeabler Membranen gewährleistet.

Die Kernhülle, das *Karyolemm*, ist Teil dieses Membransystems und besteht aus einer inneren und einer äußeren Lamelle. Die beiden Lamellen sind durch einen Zwischenraum getrennt. Die äußere Membran entspricht einer zystisch erweiterten Zisterne des endoplasmatischen Retikulum (s. unten). Der Stoffaustausch zwischen Kern und Zytoplasma findet im Bereich der Nukleoporen statt. Sie sind für kleine Moleküle frei permeabel, transportieren aber bestimmte hochmolekulare Proteine (z. B. Polymerase) aktiv aus dem Zytoplasma in den Kern und die Vorstufen der Ribosomen in umgekehrter Richtung aus dem Kern in das Zytoplasma (s. Abb. 1.1).

Die Kontaktfläche zwischen Kern und Zytoplasma ist auf das Ausmaß des Stoffaustausches zwischen den beiden Zellkompartimenten abgestimmt. Die Kernmembran ist in ständigem Wandel begriffen. Traktionen seitens des Zytoplasmas oder der Kernmatrix wirken sich auf die Form der Membran aus. Nimmt die Stoffwechselaktivität wie beispielsweise bei rasch proliferierenden Tumorzellen zu und steigt das Austauschvolumen zwischen Kern und Zytoplasma an, vergrößert die Zelle die Austauschfläche durch Kerbungen, Buchtungen und Ausstülpungen der Kernhülle.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. In stoffwechselaktiven Zellen, auch in Tumorzellen erscheint die Kernmembran durch Chromatinanlagerungen oft verdichtet.

Kapitel 1

Zellzyklus

Bei proliferierenden Zellen sind zwei Hauptphasen zu unterscheiden: die *Mitosephase*, während der die Zelle sich teilt, und die *Interphase* zwischen zwei Mitosen, während der sie sich auf die nächste Teilung vorbereitet. Einige Zellen scheiden schon früh in der Entwicklung eines Individuums vollständig aus dem Zellzyklus aus und widmen sich bestimmten Spezialfunktionen. Beispiele sind Ganglien- und quergestreifte Muskelzellen. Lichtmikroskopisch sind die meisten Organellen am besten in der Interphase, Chromosomen und Zentriolen in der Mitosephase zu erkennen.

Drei Typen der Zellteilung werden unterschieden:

- Bei der Mitose bildet sich nach Verdoppelung der DNA eine Kernspindel, die das chromosomale Material aufteilt, so dass zwei diploide Tochterzellen entstehen; bei jeder Mitose kommt es also zu einer Neuverteilung der DNA, auch die mitochondriale DNA wird nach Vermehrung aufgeteilt. Mitochondrien und mitochondriale DNA können sich aber auch außerhalb der Zellteilung bei erhöhten Anforderungen an den Stoffwechsel der Zelle vermehren.
- Bei der Meiose (Reduktionsteilung) wird der DNA-Gehalt des Kerns vor der Zellteilung nicht verdoppelt, so dass zwei haploide Tochterzellen entstehen; dies geschieht nicht in einem Schritt, sondern bedarf mehrerer vorbereitender Zellteilungen.
- Die Amitose ist eine Kernteilung ohne Ausbildung einer Kernspindel durch hantelförmige Einschnürung des Kerns.

Die Mitose ist der mit Abstand häufigste Typ der Zellteilung. Eine proliferierende Zelle durchläuft nacheinander Phasen der Teilung, Ruhe, Materialverdoppelung und erneuten Teilung. Diese Phasen bilden einen wiederkehrenden und in sich selbst mündenden Prozess, den Zellzyklus (Abb. 1.6). Bevor sich die Zelle teilt, muss das Zellmaterial (DNA, Kernprotein, Matrix, Organellen) durch Synthese verdoppelt werden. Man spricht von der Synthese-Phase, abgekürzt S-Phase. Die eigentliche Zellteilung findet in der Mitose- oder M-Phase statt. Die aktiveren Phasen der Zellteilung (S, M) werden durch Phasen relativer Ruhe, die "gap"- (engl. Lücke) oder G-Phasen unterbrochen. Das erste "gap" (G1) tritt im Anschluss an die Mitose ein, das zweite (G2) nach Abschluss der DNA-Duplikation (S-Phase). Scheidet eine Zelle nach der Mitose zeitweilig oder für immer aus dem Zellzyklus aus und hört sie auf, sich zu teilen, spricht man von G0-Phase. Die Wahrscheinlichkeit, in G₀ einzutreten, nimmt mit der Zahl der durchgemachten Teilungen zu und ist u. a. Teil des Alterungsprozesses.

Die Phasen folgen einander in stets gleicher Reihenfolge: $M-G_1-S-G_2-M'-G_1-S'-G_2-M''$ usw. (Abb. 1.6 und 1.8). Die Zyklusphasen zwischen zwei Mitosen werden



Abb. 1.6 Zellzyklus (Erklärung siehe Text)

Interphase, der Kern als Interphasenkern bezeichnet. Etwa 90% der Zellen der meisten Organe befinden sich in der Interphase. Bei *eukaryoten* Zellen beträgt die Dauer des Generationszyklus 12–24 Stunden. Eine Mitose findet in rasch proliferierenden Geweben maximal etwa alle 16–24 Stunden statt und dauert 1–2 Stunden. Bei malignen Tumoren ist die Dauer der Zyklusphasen erheblichen Schwankungen unterworfen.

Während der einzelnen Zyklusphasen weist die Zelle eine Reihe von Besonderheiten auf.

- In der G₁-Phase nimmt die Zelle ihre üblichen Aufgaben wahr, synthetisiert Protein und sezerniert Zellprodukte. Gleichzeitig entwickelt sie sich auf die S-Phase hin, indem sie kontinuierlich Kernprotein synthetisiert, während die DNA-Menge noch konstant (diploid) bleibt. Die Dauer der G₁-Phase ist variabler als die Dauer von S-, G₂- und M-Phase. Sie kann einige Sekunden betragen oder so lange anhalten, dass die Zelle praktisch ruht. Die Entwicklung zur S-Phase ist aber von einem bestimmten Zeitpunkt an unumkehrbar. Sobald dieser "point of no return" ("restriction point") in der G₁-Phase überschritten ist, können die Zellen in die S-Phase eintreten und sich weiter teilen. Normalerweise ist dies nur möglich, wenn die Zellen fest, z. B. auf einer Basalmembran, verankert sind.
- Der Beginn der S-Phase wird durch Abgabe eines S-Phasen-Aktivators im Zytoplasma eingeleitet. Die S-Phase ist durch schnelle DNA-Synthese bis zur exakten Verdoppelung der DNA in jedem Chromosom gekennzeichnet. Nach Beendigung der DNA-Verdoppelung tritt eine Replikationsblockade ein, die verhin-

6



Abb. 1.7 Mitosephasen

dert, dass DNA über die doppelte Menge hinaus repliziert wird.

- In der G₂-Phase bereitet sich die Zelle auf die Mitose vor. Sie ist nun für den S-Phasen-Aktivator unempfindlich. Das Chromatin kondensiert, und nach einer gewissen Zeit tritt die Zelle in die Mitose ein. In der G₂-Phase verfügt die Zelle bereits über ein Zentrosom mit zwei voll ausgebildeten Zentriolenpaaren.
- Die M-Phase ist der Höhepunkt im Zellzyklus, auf den in den übrigen Zyklusphasen hingearbeitet wird. Nur die Kernteilung bezeichnet man als Mitose, die Zyto-



Abb. 1.8 Mitose (späte Metaphase) einer Karzinomzelle

plasmateilung hingegen als *Zytokinese*. Der Eintritt der Zelle in die Mitose wird durch einen sehr wirksamen, aus dem Zytoplasma stammenden M-Phase-Promoting Factor (MPF) eingeleitet. Bei einer normalen Mitose wird das vorher verdoppelte genetische Material gleichmäßig auf zwei Tochterkerne verteilt. Das Chromosomenknäuel verlagert sich in die Zellmitte, und die Chromosomen teilen sich in zwei identische Hälften. Dabei spielen die beiden Zentriolen und die von ihnen zeitweilig aufgebaute Mitosespindel eine aktive Rolle. Sie steuern die Wanderung der Chromosomen zu den zwei neuen Kernzentren.

Die Teilung der Zelle verläuft in vier genau festgelegten Phasen (s. Abb. 1.7):

- Prophase: Die aus der Teilung eines Zentriols hervorgegangenen beiden Zentriolen wandern zu je einem Zellpol. Zwischen den Zentriolen entsteht eine hauptsächlich aus Mikrotubuli bestehende Mitosespindel, die u. a. aus kontraktilen Elementen wie Aktin und Myosin besteht. Die Chromosomen spiralisieren sich, werden optisch dichter und mikroskopisch sichtbar.
- Metaphase: Der Bau des Spindelapparats wird abgeschlossen. Die Kernmembran verschwindet. Die Chromosomen lösen sich aus dem Chromosomenknäuel und bilden eine Äquatorialplatte. Gleichzeitig krümmen sie sich und orientieren sich mit der Krümmung nach innen und mit den Enden nach außen. Jetzt setzt die Teilung der Chromosomen ein (s. Abb. 1.8).
- 3. Anaphase: Die Chromosomen teilen sich vollständig. Je ein Chromosomensatz wandert zu einem Zentriol. Die Zytokinese beginnt durch eine Einschnürung der Zellmembran entlang des äquatorialen Umfangs.
- 4. *Telophase*: Die Kernteilung ist abgeschlossen. Um jeden der beiden identischen Chromosomenhaufen bildet sich eine Kernmembran. Die Zytokinese wird abgeschlossen.

Die Meiose dagegen (Reifeteilung, Reduktionsteilung) ist eine Form der Zellkernteilung, bei der im Unterschied zur gewöhnlichen Mitose die Zahl der Chromosomen halbiert wird. Die Meiose besteht aus zwei Teilungsschritten (1. und 2. meiotische Teilung, Meiose I und II). In der Regel folgt nach beiden Teilungsschritten je eine weitere Zellteilung, wodurch 4 Einzelzellen entstehen. Die Halbierung der Anzahl der Chromosomensätze ist die Voraussetzung für die geschlechtliche Fortpflanzung.

Bei der *amitotischen Zellteilung* ist die Zelle nicht in der Lage, eine Mitosespindel aufzubauen. Die Kernteilung erfolgt durch Abschnürung eines Teils des Kernchromatins bei erhaltener Kernmembran. Amitotische Kernteilung kommt vor allem bei Tumoren vor (s. Kap. 2).

Der Zellzyklus wird von einer großen Anzahl von Genprodukten reguliert. Oft handelt es sich dabei um *immunzytochemisch* nachweisbare Proteine. Die äußerst verwickelten Vorgänge können hier nur kurz skizziert werden.

Die Bewegung des Zellzyklus von einer Zyklusphase in die nächste wird von *Kinasen* (cyclin-dependent kinases, kurz: Cdks) durch Phosphorylierung phasenspezifischer Substrate vorangetrieben. Die Kinasen ihrerseits werden durch Bildung von heterodimeren Molekülkomplexen mit einem Zyklin aktiviert. Bei Säugetieren sind mindestens 11 Zykline (A–H plus Untergruppen) im Spiel. Sie erreichen zu unterschiedlichen Zeiten während des Zellzyklus ihre maximale Aktivität, so die Zykline C, D1–3 und E ihre maximale Aktivität beim Übergang von der G₁- zur S-Phase, die Zykline A und B1–2 beim Übergang von der S- und G₂-Phase in die M-Phase [6].

Das Protein Ki-67 ist offenbar in der Nachbarschaft der rRNA-kodierenden Gene an die Satelliten-DNA der Zentromerregion und des kurzen Chromosomenarms gebunden. Es erscheint bereits in der G₁-Phase im Kernplasma. Während der Prophase der Mitose ist es gleichmäßig über den Zellkern verteilt. In der Metaphase hüllt es in Form eines unregelmäßigen Maschenwerks die Chromosomen ein. In der späten Telophase ist es punktförmig über den ganzen Kern verteilt, ehe es sich in den Nukleolen kondensiert. Hier bleibt es auch im Interphasenkern lokalisiert [2, 13]. Seine Funktion ist noch nicht vollständig geklärt.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Die Expression dieser Proteine sagt etwas über das Wachstumsverhalten von Zellen aus und hat daher bei Tumoren diagnostische und prognostische Bedeutung. So ist Zyklin D1 unter anderem ein entscheidender Marker für die Diagnose des Mantelzelllymphoms [6]. Das proliferationsassoziierte Protein *Ki-67* ist zwar am deutlichsten in der Mitosephase exprimiert, markiert aber auch einen großen Teil des noch nicht in Mitose befindlichen proliferierenden Zellkompartiments, also G₁-, S- und G₂-Phase eines Tumors und gibt damit Aufschluss über dessen Wachstumspotenz. Dadurch ist es eine wichtige Ergänzung der statischen DNA-Zytometrie an zytologischen Ausstrichen, wo nur wenige Zellen für die DNA-Messung zur Verfügung stehen und die Bestimmung der S-Phasen-Fraktion unmöglich ist [4].

Apoptose

Die Wachstumsregulation eines Gewebes erfordert ein Gleichgewicht zwischen Zellaufbau und Zellabbau. Dieses Gleichgewicht wird nicht nur durch die einseitige Regulation der zellulären Proliferation, sondern auch durch die genetischvorprogrammierte Apoptose (Zellabstoßung) gesichert. Die *Apoptoserate* liegt in normalen Geweben unter 5%. Da aber der ganze Vorgang von der Programmierung z. B. durch zytotoxische Zellen bis zur Zellauflösung nach In-vitro-Beobachtungen kaum 2 Stunden benötigt, ist die Apoptose trotzdem äußerst effektiv und erlaubt einen hohen Zellumsatz im Gewebe, ohne dass sich dies im makroskopischen Wachstum oder in einer nennenswerten Zunahme der apoptotischen Zellen bemerkbar macht [1].

Die Apoptose ist im Gegensatz zur Nekrose, die durch pathologische Vorgänge wie Intoxikation und Ernährungsstörung hervorgerufen wird, ein physiologischer Regelmechanismus aller Wachstums- und Umbauvorgänge in den Organen des embryonalen wie des voll entwickelten Organismus. Sie wird teils durch Hormone (Mamma, Nebenniere, Prostata, Endometrium), teils durch Lymphokine (Regenerationsgewebe, natürliche Killerzellen) gesteuert. Dabei spielen Protoonkogene eine nicht unerhebliche Rolle. Triggermechanismen sind

- der kontrollierte Einstrom von Ca⁺⁺,
- die Spaltung des Kernchromatins durch Aktivierung der Endonuklease und
- die Veränderung der Zelloberfläche und des Rezeptorstatus, u. a. durch Aktivierung von Transglutaminase.

Dadurch werden die apoptotischen Zellen von Makrophagen und Nachbarzellen erkannt und die *Phagozytose* eingeleitet.

Das auf Chromosom 17p lokalisierte *p53-Suppressorgen* nimmt eine Schlüsselfunktion in der Wachstumsregulation der Zelle ein, indem das von ihm kodierte Protein mit einer Vielzahl von Genen kooperiert, die sowohl die Proliferation als auch den genetischen Zelltod beeinflussen (Abb. 1.9). Es hält den Zellzyklus an und verhindert den vorzeitigen Eintritt einer Zelle aus der G_0 - in die G_1 -Phase und aus der G_2 M-Phase in eine neue S-Phase.

Außerdem steigert p53 die Transkriptionsrate einer Reihe von Genprodukten, die die Apoptose steuern. Folgende Beispiele mögen genügen: p21 (WAF-1) hält den Zellzyklus an und stoppt die DNA-Synthese, indem es

8



Abb. 1.9 Stark vereinfachte Darstellung der zentralen Bedeutung von p53 in der Proliferationskontrolle: Wildtyp-p53 beeinflusst die transkriptorische Aktivität zahlreicher für die Regulation der Proliferation zuständiger Gene, u.a. fördert (\rightarrow) es die Synthese von p21, das mit zyklinabhängiger Kinase, Zyklin D und "proliferative cell nuclear antigen" einen quarternären Komplex bildet. Im Überschuss hemmt (-/) es die Komplexbildung von CDK und Zyklin und unterbricht (//) damit die Replikationsmaschinerie der Zelle an entscheidender Stelle; im Zellzyklus befindliche Zellen werden daran

gehindert, aus der G₁-Phase in die Synthesephase einzutreten und fallen daher der Apoptose anheim. Außerdem beeinflusst p53 das Bax-Gen, das mit sich selbst einen dimeren apoptosefördernden Komplex bildet. Normalerweise wird die Bildung von Bax-Komplexen durch konkurrierende Komplexbildung mit dem verwandten Protein Bcl-2 verhindert. Beide Mechanismen können infolge Mutation des p53-Gens bei malignen Tumoren außer Kraft gesetzt sein. Die beteiligten Proteine lassen sich immunzytochemisch nachweisen

sich an Kinase-Zyklin-Komplexe bindet. Bax wirkt in dieselbe Richtung, da es sich an Bcl-2 bindet, das den Übergang in die Apoptose verhindert und dadurch dessen antiapoptotische Wirkung aufhebt. Das IGF-BP3 ("insulin-like growth factor binding protein-3") blockiert den IGF-Rezeptor und wirkt dadurch antimitogen. GADD45 spielt u. a. bei DNA-Reparaturvorgängen eine Rolle. Ist p53 infolge Genmutation inaktiv, bleibt die DNA-Reparatur aus, und DNA-Fehler im Genom häufen sich (s. S. 26). Das p53-Gen seinerseits wird durch DNA-Schäden aktiviert [8, 9].

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Die apoptotischen Zellen schrumpfen und verlieren dabei ihren Kontakt mit den Nachbarzellen. Ihr Zytoplasma wird hypereosinophil, doch bleiben die Zytoplasmaorganellen zunächst noch intakt. Allmählich verdichtet sich aber der Zellkern (*Pyknose*) und zerfällt (*Karyorhexis*, Abb. 1.10). Schließlich fallen auch die übrigen Zellbestandteile der Selbstzerstörung anheim. Kern- und Zytoplasmatrümmer wer-



Abb. 1.10 Karyorrhexis. Lymphom mit hoher Apoptoserate in gynäkologischem Abstrich; verschiedene Stadien der Chromatinverklumpung apoptotischer Lymphomzellen (PapF, Obj. 63×, nachvergr.)

den phagozytiert. Kerntrümmermakrophagen sind daher Apoptoseindikatoren (s. Abb. 24.5c).

Apoptoseassoziierte Proteine lassen sich diagnostisch nutzen. Das *mutierte p53* ist im Unterschied zum kurzlebigen Wildtyp-p53 (WT-p53) immunzytochemisch nachweisbar und wurde daher als Malignitätsmarker empfohlen [7, 10], ist aber als solcher unzuverlässig. *Bcl-2* ist ein diagnostisch wichtiger Marker. Im Unterschied zu den Zentroblasten eines normalen Keimzentrums exprimieren die Zellen der meisten Keimzentrumslymphome Bcl-2. Auch andere Tumorzellen sind Bcl-2-positiv.

Nukleolus

Der während der Interphase in jedem Zellkern vorhandene Nukleolus ist die *Produktionsstätte der ribosomalen Ribonukleinsäuren* (rRNA) [5]. Er ist durchschnittlich ca. 1 µm groß, rund und gut abgrenzbar. Er bildet sich nach beendeter Mitose und mit Beginn der Interphase durch Zusammenlagerung der großen DNA-Schlingen der Chromosomenpaare 13, 14, 15, 21 und 22. Diese "Nucleolar Organizer Regions" (NORs) liegen auf dem kurzen Arm der genannten Chromosomen, sind mit einem argentaffinen Protein assoziiert und daher mit verschiedenen Silberfärbungen als "AgNORs" darstellbar (Abb. 1.11). Die NORs enthalten jeweils mehrere Gene für die Produktion der rRNA.

Elektronenmikroskopisch unterscheidet man granuläre und fibrilläre Nukleolensegmente. Die fibrillären entsprechen den ribosomalen Genen und stehen in enger Beziehung zu den NORs. Die nukleoläre Strukturverdichtung kommt durch kontinuierliche Transkription von multiplen Genkopien und Bildung einer großen Menge von rRNA zustande, die sofort mit Proteinen zu Ribosomen zusammengebaut wird.

Die Nukleolen verändern ihre Gestalt auch während des Zellzyklus und in bestimmten Phasen der Zell-



Abb. 1.11 AgNors, dargestellt am zytologischen Ausstrich in Lymphomzellkernen

funktion. Unmittelbar vor der Zellteilung erscheinen sie gewöhnlich homogen und plump. Während der Mitose verschwinden sie. Erst in der Telophase tauchen sie wieder auf, anfänglich als 10 winzige Chromozentren, die den RNA-Genen der 5 Chromosomenpaare mit NOR entsprechen, um sich dann allmählich über Zwischenstufen wieder zu einheitlichen Kernkörperchen zusammenzuschließen. Schließlich verlassen die Nukleolen zeitweise ihre zentrale Position innerhalb des Kerns und lagern sich der Kernmembran an, um RNA durch die Nukleoporen in das Zytoplasma abzugeben.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. In der zytologischen Diagnostik spielen die Nukleolen bei der Beurteilung von proliferativer und metabolischer Aktivität einer Zelle sowie deren Differenzierung eine wichtige Rolle.

- In Zellpopulationen mit *hoher Proliferationsrate* reicht die Zeit zwischen zwei Zellteilungen nicht zur vollständigen Synthese der Nukleolen aus. Daher sind die Nukleolen in rasch wachsenden, hochgradig malignen Tumoren (Beispiel: kleinzelliges neuroendokrines Karzinom) oft nicht oder nur in Vorstufen als multiple kleine Chromozentren erkennbar.
- Da die Zahl der AgNORs mit der Proliferation in Zusammenhang steht, kann sie zum Malignitätsnachweis und Tumorgrading eingesetzt werden (siehe AgNOR-Methode, allgemeiner Laborteil, Kapitel 28).
- Die Größe der Nukleolen ist ein mittelbarer Hinweis auf die Stoffwechselaktivität einer Zelle, da rRNA- und Proteinsynthese von der Stoffwechselfunktion der Zelle abhängen. Die Nukleolen treten in regeneratorisch oder hormonell aktiven Zellen besonders deutlich hervor.
- Die Nukleolen sind je nach Stoffwechselaktivität von Organ zu Organ unterschiedlich entwickelt. Damit ist die Nukleolengröße ein indirekter Hinweis auf die *funktionelle Differenzierung* einer Zelle. In den stoffwechselarmen, vollständig differenzierten Plattenepithelien, Flimmerzellen, Prostata- oder Schilddrüsenepithelien sind sie kaum erkennbar. In sekretorisch oder metabolisch aktiven Zellen (z. B. Hepatozyten), aber auch in embryonalen Zellen und Zellen langsam wachsender Tumoren sind sie dagegen besonders groß.
- Wahrscheinlich in Abhängigkeit von der Aktivität der Proteinsynthese verändern die Nukleolen ihre *färberischen Eigenschaften*. Sie sind basophil, solange rein quantitativ DNA- und RNA-Gehalt bestimmend sind, also vor allem unmittelbar nach der Mitose. Sie sind eosinophil, wenn – wie in manchen malignen Tumoren – reichlich basische Proteine produziert werden.

Zytoplasma

Zytoplasma

Die wichtigsten Bestandteile des Zytoplasmas sind:

- Das Zytosol (Matrix, Hyaloplasma, Zellsaft), die Grundsubstanz des Zytoplasmas, ist eine wässerige Lösung von Proteinen und anderen Stoffen. Die kolloidalen Eigenschaften der Lösung ermöglichen eine lokal steuerbare Sol-Gel-Transformation und damit eine abgestufte Viskositätsänderung innerhalb der Zelle. Erst dadurch werden zellinterne Umstrukturierungs- und Transportvorgänge sowie Formveränderung und Beweglichkeit der Zelle möglich.
- Das Zytoskelett ist das Baugerüst der Zelle und besteht aus Strukturproteinen, die ihr eine ihren funktionellen Erfordernissen angepasste Form und Festigkeit verleihen. Wie alle Zellbestandteile sind auch die Elemente des Zytoskeletts keineswegs starr, sondern befinden sich in einem rasch veränderlichen dynamischen Gleichgewicht mit anderen Zellbestandteilen. Man unterscheidet vier Hauptgruppen von Zytoskelettelementen:
 - Die Mikrotubuli (MT) sind feine Röhrchen mit einem Durchmesser von 24 nm und einer Länge bis zu mehreren Mikrometern. Sie bestehen aus Tubulin, einem globulären Protein, das durch Polymerisation seiner Vorstufen unter Einfluss von kalziumhaltigem Calmodulin synthetisiert wird. Mikrotubuli sind an der Bildung verschiedener Zellorganellen, unter anderem der Zentriolen beteiligt. Zentriolen sind 0,3–0,5 µm lange, zylinderförmige Gebilde, deren Wände aus longitudinal gerichteten MT bestehen. Sie sind an der Verankerung von Zilien und Geißeln sowie am Aufbau der Mitosespindel beteiligt.
 - Mikrofilamente sind sehr feine aus Aktin bestehende fadenförmige Gebilde mit einem Durchmesser von 5–7 nm (Abb. 1.12). Die Mikrofilamente liegen einzeln oder in Bündeln und machen 10–15% des gesamten Zellproteins aus. Man unterscheidet myosinassoziiertes und myosinfreies Aktin. Das myosinassoziierte Aktin bildet die Myofibrillen der Muskelzellen.
 - Intermediärfilamente sind fadenförmige Strukturelemente mit einem Durchmesser von 8–10 nm. Ihrer Größe nach liegen sie also zwischen ("intermediär") den dickeren Mikrotubuli und den dünneren Mikrofilamenten. Man unterscheidet 5 Typen, deren Vorkommen an bestimmte Zellfunktionen gebunden ist: Präkeratin in Epithelzellen, Vimentin in Mesenchymzellen, Desmin in Muskelzellen, Gliafilamente ("glial fibrillary acidic protein", GFAP) in Gliazellen und Neurofilamente in Nervenzellen.
 - Die Mikrotrabekel sind mit einem Durchmesser von 15 nm die größten Bestandteile des Zytoskeletts. Ihr dreidimensionales Gitterwerk verbindet andere Strukturelemente (Mikrotubuli, Filamente),

Abb. 1.12 Zytokeratingerüst einer Leberzelle aus Zellkultur, immunfluoreszenzmikroskopische Darstellung mittels Antikörper gegen CK8, 18. (Aufnahme Prof. L. Terracciano/Basel, ca. 1000×)

Zellbestandteile (Zellmembran, Kernmembran) und Organellen. Über ihre Funktion ist noch wenig bekannt.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Da jede Zelle ein ihrer Funktion entsprechendes Zytoskelett besitzt, sind die verschiedenen Filamente diagnostisch wichtige Differenzierungsmerkmale. Mit spezifischen Antikörpern gegen die verschiedenen Filamente, insbesondere gegen Intermediär- und Mikrofilamente, ist am histologischen wie am zytologischen Präparat eine detaillierte immunzytochemische Zelltypisierung möglich. Antikörper gegen myosinassoziiertes Aktin (SMA, "smooth muscle actin") dienen dem immunchemischen Nachweis der myozellulären Differenzierung von Leiomyosarkomen und anderen Sarkomen in der zytologischen wie histologischen Tumordiagnostik. Auch gegen bestimmte Intermediärfilamente gerichtete Antikörper sind heute aus der morphologischen Diagnose von epithelialen, mesenchymalen glialen und neuralen Tumoren nicht mehr wegzudenken.

Klassische Mitosehemmer wie Colchicin und Mitomycin hemmen die Tubulinsynthese und damit den Aufbau der für eine geordnete Zellteilung wichtigen Zentriolen. Dadurch wird die Kernteilung nach der Synthesephase abgebrochen. Das Resultat sind auch im Normalgewebe nachweisbare Zellen mit vergrößerten Kernen.

Zellverbindungen

Epithelzellen sind untereinander durch eine ganze Anzahl von Organellen eng verbunden. Die Verbindungen gewährleisten den Zusammenhalt der Zellen im Zellverband, bilden eine Barriere zwischen der Außenwelt und dem eigentlichen Körperinneren und stellen die Infrastruktur für die Signalübermittlung zwischen den Zellen bereit. Zonula occludens, Zonula adhaerens und Desmosomen bzw. Hemidesmosomen bilden den junktionalen Komplex, den eigentlichen Zellbindeapparat. Er liegt im oberen Drittel der Zelle. Weitere Zellkontakte werden durch adhäsive Glykoproteine und offene Verbindungen hergestellt.

Die Zonulae occludentes ("tight junctions") bilden oberflächennah um die gesamte Zelle herum ein System von Verschmelzungen zwischen der äußeren Schicht ihres Plasmalemms mit dem der Nachbarzellen. Die Schweißpunkte zwischen den Zellmembranen werden als *Maculae occludentes* bezeichnet. Die Zonulae occludentes bilden eine dichte Barriere. Substanzen können diese Barriere von außen nach innen und von innen nach außen nur durch aktiven Transport überwinden. Damit wird ein selektiver Stoffaustausch mit der Umgebung möglich (Beispiel: Zylinderzellen des Darmepithels).

Die Zonulae adhaerentes ("adhesion belt" oder "adhering junction") sind ebenfalls für die mechanische Verbindung von Zellen untereinander zuständig. In ihnen werden die Zellmembranen durch membranüberschreitende Glykoproteine, die zur Familie der Ca⁺⁺-abhängigen Zell-Zell-Adhäsionsmoleküle (Cadherine) gehören, zusammengehalten. Unter dem Adhäsionsgürtel liegen durch Haftproteine (Vinkulin) an der Membraninnenseite befestigte kontraktile Aktinbündel.

Die unterhalb der Zonula adherens liegenden Desmosomen sind knopfförmige Kontaktpunkte, an denen die Zellen zusammengenietet sind (Abb. 1.13). Die ähnlich gebauten Hemidesmosomen heften die Zellen an die Basalmembran an. Die dem inneren Plasmalemm anliegenden Haftplatten bestehen aus einem granulären Material. Sie sind die Ankerpunkte eines Netzwerks von Intermediärfilamenten, das über die Einzelzelle hinaus dem gesamten Epithelverband Halt verleiht. Der Typ der Intermediärfilamente hängt vom Zelltyp ab. Bei den meisten Epithelzellen ist es Keratin, bei Herzmuskelzellen Desmin, bei anderen Zellen auch Vimentin.

Weniger für den Zellzusammenhalt als für die Signalübertragung wichtig sind die offenen Verbindungen ("gap junctions") zwischen den Epithelzellen. Die 1,5 nm dünnen Kanälchen werden von Membranproteinen eingefasst. Sie erlauben, 1000–1500 Dalton große Moleküle von einer Zelle zur anderen auszutauschen und sind für die Stoffwechselkoordination der Epithelzellen wichtig. Die offenen Verbindungen werden wie Schleusen nach Bedarf geöffnet und geschlossen.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Die Zellverbindungen stellen eine Differenzierungsleistung insbesondere der Epithelien dar. Während der Zellteilung geht ein großer Teil der speziellen epithelialen Differenzierung verloren. Neu gebildete Zellen haften zunächst mit Hilfe



Abb. 1.13 Desmosomen zwischen zwei Zellen eines Thymoms. Im Bereich von rechtem und mittlerem Desmosom Zellmembranen orthograd getroffen. Granula im Zytoplasma entsprechen Ribosomen. (EM-Aufnahme Prof. F. Gudat/Basel, 8000×)

von Adhäsionsmolekülen aneinander und bilden dann wieder die übrigen Bindeapparate aus. Diese Mechanismen spielen auch bei rasch wachsenden Tumoren eine Rolle. Außerdem sind bei malignen Tumoren häufig Regulation und Produktion der Adhäsionsmoleküle sowie der Aufbau des Zytoskeletts gestört. (Die Zellen exprimieren z. B. Vimentin anstelle von Keratin.) Die damit verbundene Lockerung des Zusammenhalts ist ein wichtiges zytologisches Malignitätskriterium (s. S. 38).

Mitochondrien

Mitochondrien sind längsovale oder kugelige, im größten Durchmesser 0,5–1,0 μ m messende Gebilde (s. Abb. 1.1). Sie sind die Energiegeneratoren ("Kraftwerke") der Zelle. Die Energie wird aus der oxydativen Spaltung von Zucker und Fettsäuren in Kohlendioxyd und Wasser gewonnen und durch oxydative Phosphorylierung von Adenosin-Diphosphat (ADP) zu Adenosin-Triphosphat (ATP) in eine speicherfähige Form gebracht. ATP ist dann die Batterie, aus der rasch die Energie mobilisiert werden kann, die für die anabolen Prozesse und für die Bewegungen der Zelle notwendig ist.

Die Lokalisation der 1000–2000 Mitochondrien innerhalb der Zelle hängt von der Zellfunktion ab und ist deshalb sehr variabel. Meist liegen die Mitochondrien den Mikrotubuli an oder befinden sich dort, wo am meisten Energie benötigt wird. In Flimmerzellen liegen sie in der Nähe der Ziliosomen, in Muskelzellen zwischen den Myofibrillen, und in den Spermien sind sie um die Geißel gewickelt.

Die Mitochondrien sind von einer Doppelmembran umgeben. Sie bildet das Gerüst für die Übertragung der Oxydationsenergie auf die ADP. Zwischen äußerer und innerer Membran befindet sich der mit einer amorphen Masse gefüllte äußere Stoffwechselraum, innerhalb der inneren Membran der innere Stoffwechselraum, die eigentliche Matrix des Mitochondriums.

Die beiden Blätter der Membran haben unterschiedliche Funktionen. Das äußere glatte Kompartiment enthält Enzyme der Lipidsynthese und das Transportprotein Porin, das nur bis 10.000 Dalton große Moleküle in den intermembranösen Raum durchlässt. Das größere innere Kompartiment besteht zu 70% aus Protein und zu 30% aus Phospholipid und katalysiert viele Reaktionen. Es ist reich an Kardiolipin und daher ionenundurchlässig. Vor allem aber enthält es die Enzyme der Atmungskette, die für die oxydative Phosphorylierung wichtige ATP-Synthetase sowie Transportproteine, die den Stoffaustausch mit der Matrix des Mitochondriums regulieren. Einen raschen Stoffaustausch mit der Matrix gewährleistet die Oberflächenvergrößerung durch die Cristae mitochondriales. Dies sind in die Matrix vorspringende, je nach spezifischer Funktion der Zelle unterschiedlich gestaltete und unterschiedlich dichte Faltenbildungen des inneren Membrankompartiments. Die fein-granuläre Matrix enthält eine hochkonzentrierte Mischung aus Hunderten von Enzymen. Sie enthält als einziger Ort außerhalb des Kerns DNA. Diese mitochondriale DNA ist von der nukleären DNA unabhängig und durch ihre Ringform auch strukturell verschieden. Sie ist für die Bildung der mitochondrialen Ribosomen erforderlich.

Sind die Stoffwechselanforderungen an die Zelle hoch oder der Energiehaushalt der Zelle gestört, nehmen die Mitochondrien an Zahl und Größe zu. Deshalb erscheint das Zytoplasma von Leberzellen und Onkozyten granulär (s. Abb. 19.4 und 20.14). Bleibt während der Zellteilung die mitochondriale Teilung aus, entstehen bei Verminderung der Mitochondrienzahl Megamitochondrien. Dies wird z. B. infolge toxischer Zellschädigung ebenfalls nicht selten in Leberzellen beobachtet. Eine nicht unmittelbar auf äußere Einflüsse zurückgehende mitochondriale Teilungsstörung ist die Ursache der "onkozytären" Umwandlung mancher Epithelien. Sie kommt in nichtneoplastischen Drüsenzellen z. B. von Mamma, Schweiß- und Speicheldrüsen vor, wird aber auch in Nieren-, Schilddrüsen- und anderen Tumoren beobachtet.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Mitochondrien und Lysosomen (s. unten) sind die einzigen lichtmikroskopisch wahrnehmbaren Zytoplasmaorganellen. Die Mitochondrien erscheinen wegen ihres Reichtums an basischen Proteinen als feine eosinophile Granula. Da ihre Größe, Zahl und Funktion in Abhängigkeit von der spezifischen Zellfunktion variieren, prägen sie wesentlich den mikroskopischen Zelltyp und liefern wichtige Hinweise für die zytologische Diagnostik.

Endoplasmatisches Retikulum (ER)

Das endoplasmatische Retikulum ist die *Produktions*straße der Eiweißsynthese. Es besteht aus einer in sich netzartig verschlungenen Membran, die einen geschlossenen labyrinthartigen Spaltraum (Abb. 1.14) mit abgeflachten sackförmigen Zisternen bildet und sich in die äußere Kernmembran fortsetzt. Der Spaltraum des ER stellt die Transportwege zwischen den verschiedenen Zellorganellen bereit und isoliert die synthetisierten Proteine vom Zytosol. Auf diese Weise können Enzyme, die dem Zytosol schädlich werden könnten, bis zum Export aus der Zelle vom Zytosol ferngehalten werden.

Die äußere, zytosolseitige Wand der Membran ist teilweise mit Ribosomen besetzt. Die ribosomenbesetzten Membranteile werden als *raues endoplasmatisches Retikulum* (RER), die ribosomenfreien als *glattes endoplasmatisches Retikulum* (SER, "smooth endoplasmatic reticulum") bezeichnet.

Das RER ist vor allem für die Biosynthese der Proteine zuständig. Die im Nukleolus aus Messenger-RNA und ursprünglich im Zytoplasma hergestellten Proteinen synthetisierten Ribosomen sind die Schablonen für die zytoplasmatische Eiweißsynthese. Sie haben einen Durchmesser von 15–20 nm und bestehen zu etwa 40% aus ribosomaler RNA und zu 60% aus Protein. Die membranständigen Ribosomen (Abb. 1.14) synthetisieren Peptide und geben sie in die Zisternen ab. Hier werden die Peptide zu größeren Molekülen zusammengebaut, in Transportvesikel aus Membranmaterial des ER verpackt und zum *Golgi-Apparat* (s. unten) gebracht. Neben den membrangebundenen Ribosomen gibt es auch freie Ribosomen, die ihre fertigen Proteine direkt in das Zytosol abgeben.

Das glatte endoplasmatische Retikulum enthält hauptsächlich die Enzyme der Lipoidsynthese und Enzyme, die die Entgiftung von fettlöslichen Medikamenten und anderen Stoffen (Alkohol) katalysieren. Es ist deshalb in Zellen, die Cholesterin für die Hormonsynthese produzieren (z. B. Zellen der Nebennierenrinde) oder für die Entgiftung (z. B. Leberzellen beim Alkoholiker) eine Rolle spielen, besonders stark entwickelt. Diese Zellen erscheinen zytologisch und histologisch oft auffallend transparent.

Der Aufbau des endoplasmatischen Retikulums variiert also je nach Aktivität und Funktion des Stoffwechsels einer Zelle. Bei intensiver Proteinsynthese nimmt die Zahl der Ribosomen zu. Dadurch erscheint das Zytoplasma lichtmikroskopisch dichter und stärker basophil (s. Tumorkriterien, S. 39). Bildet die Zelle Sekret, erscheint das Zytoplasma durch eine Vielzahl von Transportvesikeln aufgelockert. Von der Synthese- bis zur Mitosephase unterliegt das endoplasmatische Retikulum während der Proliferation einem ständigen Wandel und das Zytoplasma erscheint zunächst basophil, dann stärker transparent. 14



Abb. 1.14 Raues endoplasmatisches Retikulum. Neben dem Zellkern (*links oben*) Ergastoplasmaschläuche mit Ribosomen (*schwarze Pünktchen*; EM, 12.000×2)

Bei Schädigung einer Zelle durch toxische Substanzen, Hypoxie oder Ernährungsstörung zerfällt das endoplasmatische Retikulum in kleine Vesikel. Ist die Schädigung so schwer, dass die Natriumpumpe (s. unten) versagt, strömt Wasser in die Bläschen ein. Dies gibt sich lichtmikroskopisch als vakuolige Degeneration zu erkennen. Lagert das gesamte Zytoplasma Wasser ein, spricht man von hydropischer Schwellung; die Zelle gleicht jetzt einer Pflanzenzelle und steht kurz vor ihrem Tod.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Sind Zusammensetzung und Transport eines Sekrets gestört, entstehen durch Sekreteindickung im endoplasmatischen Retikulum Einschlüsse, die lichtmikroskopisch als homogene kugelige Körperchen erscheinen. Beispiele sind die in plasmazellreichen Entzündungen und bei Plasmozytomen vorkommenden, aus Immunglobulinen bestehenden *Russel-Körperchen* (Abb. 1.15). Bei Virusinfekten dringen Viren in das RER ein, um sich dort zu vermehren. Das lichtmikroskopische Korrelat sind zytoplasmatische Einschlusskörper. Das SER vermehrt sich bei



Abb. 1.15 Russel-Körperchen. a Bronchialsekret bei chronischer Bronchitis; Neben Lymphozyten und einzelnen Plasmazellen mehrere, teils frei, teils intrazellulär gelegene erythrozytengroße, homogene rot oder grün gefärbte Gebilde (PapF, 525×); b chronische Entzündung, Makrophage mit zahlreichen phagozytierten RK (Obj. 63×)

Arzneimittelgewöhnung, in Hepatozyten bei der Cholestase und bei der HBS-positiven Hepatitis (Milchglaszellen, Orcein-positiv). Als Nebenwirkung verschiedener Arzneimittel kommt es zu einer Vakuolisierung sowie zu einer Anhäufung von Membranpartikeln des SER, die zur Bildung zyanophiler Partikeln, sog. zytoplasmatischer Kernpartikeln, führt.

Golgi-Apparat

Das von dem italienischen Neurohistologen Camillo Golgi (1843–1926) entdeckte Zellorganell ist für Endverarbeitung, Verpackung und Versand der Produkte des endoplasmatischen Retikulums zuständig (s. Abb. 1.1). Hier werden Proteine aus dem endoplasmatischen Retikulum mit Kohlehydraten zu Proteoglykanen zusammengebaut, die lysosomalen (s. unten) Membranen und Membranteile zur Deckung der bei Exozytose entstandenen Defekte des Plasmalemm hergestellt. Der Golgi-Apparat misst 0,5–1,5 µm und besteht aus einem geordneten Stapel von abgeplatteten, schüsselförmig gebogenen Zisternen. Diese bilden vier Unterabteilungen: Cis-, Mittel- und Trans-Golgi sowie Trans-Golgi-Netzwerk. Die aus dem ER stammenden Transportvakuolen werden auf der konvexen Seite der Zisternen aufgenommen und nach Bearbeitung über die konkave Seite wieder abgegeben. Alle Proteine, die die ersten drei Unterabteilungen passiert haben, werden im Trans-Golgi-Netzwerk sortiert und ihrem Bestimmungsort zugeleitet.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Die Größe des Golgi-Apparats hängt von der Stoffwechselaktivität der Zelle ab. Lichtmikroskopisch ist er mit den üblichen zytologischen Färbemethoden nur selten, z. B. in Plasmazellen, als paranukleäre Aufhellung zu erkennen, lässt sich aber mit Osmium oder Silber gezielt sichtbar machen. Ein typisches Enzym des Golgi-Apparats ist die histochemisch nachweisbare saure Phosphatase. Bei krankhaften Prozessen werden zusätzlich Substanzen in den Golgi-Vakuolen eingelagert: Lipoproteine bei Leberverfettung, Gallepigmente bei Cholestase, Phospholipide bei Alveolarproteinose.

Lysosomen

Lysosomen sind Deponie, Verbrennungs- und Aufbereitungsanlage der Zelle in einem. Die von einer Membran umgebenen Bläschen enthalten 40–60 saure Hydrolasen, darunter saure Phosphatase, beta-Glukuronidase, Sulfatasen, Peptidasen, Ribonuklease und Desoxiribonuklease. Enzyme und Membranproteine werden im endoplasmatischen Retikulum synthetisiert und im Trans-Golgi-Netzwerk in Transportvesikel verpackt, bevor sie den Lysosomen zugeleitet werden (s. Abb. 1.1).

Das Aktivitätsoptimum der Hydrolasen liegt bei pH 5, also deutlich unter dem im Zytosol herrschenden pH-Wert von 7,2. Die lysosomale Membran hat daher eine Doppelfunktion. Sie schirmt die Enzyme vom Zytosol ab und verfügt über einen Pumpmechanismus, der H⁺-Ionen in das Innere des Lysosoms pumpt und so die Wasserstoffionenkonzentration bei pH 5 konstant hält.

In den Lysosomen werden intra- und extrazelluläre Abfallstoffe, Mikroorganismen und sogar Lipoproteine aus dem Serum verarbeitet. Die Serumlipoproteine werden in Cholesterin verwandelt und dann weiterverwertet. Die Stoffe werden durch Endozytose oder Phagozytose (s. S. 16) in die Zelle eingeschleust oder durch Autophagie aus der Zelle selbst eliminiert. Jedes Lysosom ist auf bestimmte Stoffe spezialisiert und enthält nur die für deren Bearbeitung notwendigen Enzyme. Bedeutung für die Zytodiagnostik. Obwohl in allen Zellen vorhanden, sind Lysosomen lichtmikroskopisch nur in einigen zu erkennen. Denn je nach spezifischer Funktion sind Form und Größe der Lysosomen außerordentlich variabel. Die größten Lysosomen werden in Zellen mit hoher Stoffwechselaktivität (Leberzellen) und in phagozytierenden Zellen (Makrophagen, neutrophile Granulozyten) gefunden.

Wie bei der Müllverbrennung bleiben in den Lysosomen nicht verwertbare Schlackenstoffe in Form von Abnutzungspigmenten übrig. Das bekannteste Beispiel ist *Lipofuszin*, das zytologisch u. a. in Hepatozyten, Prostata- und Schilddrüsenepithelien beobachtet wird. Auch Staubpartikel können lange Zeit in Lysosomen gespeichert werden. Wenn bestimmte lysosomale Enzyme aufgrund eines angeborenen Defekts fehlen, entstehen Speicherkrankheiten (Thesaurismosen) mit Ansammlung von Glykogen, Gangliosid, Zerebrosid oder Sphingomyelin in den Lysosomen.

Äußere Zellmembran (Plasmalemm)

Die äußere Zellmembran schützt die Zelle vor Milieueinflüssen und regelt gleichzeitig den Stoffaustausch mit der Umgebung. Sie ist eine semipermeable Biomembran und folgt demselben Bauprinzip wie andere Membranen der Zelle (Kernmembran, lysosomale, mitochondriale Membranen etc.). Das Grundgerüst bildet eine 0,75– 10 nm dicke Doppelschicht von *Lipoid*- und *Proteinmolekülen*. Die Beweglichkeit bestimmter Proteine innerhalb der Membran ist entsprechend ihrer Funktion eingeschränkt. In resorptiv aktiven, polar organisierten Zellen liegen bestimmte Transportproteine apikal, die für die interzellulären Verbindungen wichtigen Proteine lateral zur benachbarten Zellmembran hin.

Die Lipidmoleküle, hauptsächlich *Phospholipide, Cholesterin* und *Glykolipide*, haben einen hydrophilen (wasserliebenden) und einen hydrophoben (wasserfliehenden) Pol. Sie bilden wegen ihrer amphibolen Eigenschaft schon spontan in wässrigen Lösungen eine Doppelschicht oder Kügelchen (Mizellen), indem sie sich mit ihrem aus zwei Fettsäuren bestehenden hydrophoben (lipophilen) Schwanzteil aneinanderlagern. Dasselbe Phänomen ist in der Zellmembran zu beobachten, wo die Lipidmoleküle der beiden Schichten mit ihrem lipophilen Pol aneinanderstoßen, während ihr hydrophiler Kopfteil in der äußeren Membran nach außen, in der inneren gegen das Zytosol gerichtet ist. Wegen der unterschiedlichen Dichte von Kopf- und Schwanzteilen erscheint die Zellmembran elektronenmikroskopisch dreischichtig (Abb. 1.16).

Der Proteinanteil variiert je nach Funktion der Zelle zwischen 25 und 50%. Die Proteine sind auf unterschiedliche Weise in die Membran eingebaut. Meist besitzen sie einen lipophilen intramembranösen und zwei über



Abb. 1.16 Aufbau der Zellmembran. PhL Phospholipid; GL Glykolipid; GP Glykoprotein; TP Transmembranprotein; IK Ionenkanal; PP peripheres Protein. Die Polysaccharide der Glykolipide und Glykoproteine bilden den Glykokalix

die Membran hinausreichende hydrophile Gruppen. Sie dienen als Transport- und Tunnelmoleküle, als Enzyme membrangebundener Reaktionen, als Oberflächenrezeptoren (s. unten) und als Träger der Antigenität. Außerdem stabilisieren sie die Membran, u. a. durch Verknüpfungen mit dem Zytoskelett.

Innere und äußere Membranschicht sind lipidchemisch unterschiedlich aufgebaut. Oligosaccharidhaltige Moleküle wie Glykolipide, Glykoproteine und Proteoglykane kommen nur in der äußeren Membran vor und bilden hier den *Glykokalix*. Die Glykolipide werden in der Lichtung des Golgi-Apparats zusammengebaut. Der Glykokalix ist für das Zusammenwirken der Zelle mit der Umgebung von Bedeutung. Bestandteile des Glykokalix sind u. a. Blutgruppen- und Transplantationsantigene. Einige Glykoproteine und Proteoglykane des Glykokalix sind an Makromoleküle der extrazellulären Matrix gebunden, so dass sich die Grenzen zwischen Zelle und extrazellulärer Matrix verwischen.

Der Glykokalix lässt sich lichtmikroskopisch mit Ruthenium-Rot und mit Lektinen (Concanavalin A, Sojabohnen-Lektin u. a.) darstellen. Dies sind pflanzliche Proteine, die Verbindungen mit den Zuckern der Membranhülle von Kohlehydraten eingehen können.

Für den Stoffaustausch durch die Zellmembran hindurch verfügt die Zelle über mehrere Möglichkeiten. Fettlösliche Moleküle (Steroidhormone) können frei durch die Lipidmembran in das Zellinnere diffundieren. Für wasserlösliche Moleküle ist die Zellmembran undurchlässig. In Wasser gelöste Ionen werden zu einem großen Teil über kleine von Tunnelproteinen ausgekleidete Ionenkanäle ausgetauscht. Jeder Ionenkanal ist auf den Austausch eines oder mehrerer Ionen von bestimmter Größe und Ladung spezialisiert. Der Austausch folgt überwiegend passiv dem Ladungsgradienten zwischen Zytosol und Außenwelt. Einige Ionen, besonders H+, Na+, K+, Ca++, aber auch andere wasserlösliche Moleküle (z. B. CO₂ und Glukose) werden aktiv unter Vermittlung von Transportproteinen in die Zelle hinein- und/oder aus ihr herausgepumpt. Die für die Natrium/Kalium- und für die Kalziumpumpe verantwortlichen Proteine sind ATPasen. Sie erzeugen durch Dephosphorylierung von ATP zu ADP die Potentialdifferenz, die positiv geladenen Ionen den Eintritt in das Zytosol ermöglicht und negativ geladenen verwehrt.

Große Moleküle und Partikel werden in Lipidmembranen verpackt und durch die Zellmembran ein- oder ausgeschleust. Die Verlagerung von Bläschen, die durch Einoder Ausstülpung und Abschnürung der Zellmembran entstehen und Moleküle oder Partikel aus der Umgebung in das Zellinnere transportieren, wird als Endozytose bezeichnet. Die Endozytose kommt in zwei Formen vor: Bei der Pinozytose stülpt sich ein Teil der Membran nach innen und umschließt die aufzunehmende Substanz in Form eines nach innen gewölbten Bläschens. Bei der Phagozytose wird die Substanz oder das Partikel der Zellmembran aufgelagert und von Protrusionen der Membran umflossen und in einem nach außen gewölbten Bläschen eingeschlossen. Die Ausschleusung von Material aus dem Zellinneren in die Umgebung wird als Exozytose bezeichnet. Im Golgi-Apparat gebildete Transport- und Sekretvesikel oder Vesikel mit intrazellulären Abbauprodukten fusionieren mit der Zellmembran und entlassen ihren Inhalt (z. B. Insulin, Lysozym) in den extrazellulären Raum. Endo- und Exozytosebläschen besitzen eine der Zellmembran entsprechende doppelschichtige Hülle.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Lichtmikroskopisch ist die Zytoplasmamembran nicht zu sehen. Doch lassen sich viele membrangebundene Epitope der Zelle immunzytochemisch darstellen. Die fehlende Blutgruppenexpression an der Oberfläche bestimmter Tumoren (Harnblasentumoren!) gilt als Prognosekriterium. Auch manche epitheliale Differenzierungsmarker wie humanes Milchfettglobulin (HMFG2) und die Epitope bestimmter epithelialer Marker (EMA, BerEP4) sind membrangebunden.

Rezeptoren

Innerhalb des Gesamtorganismus müssen Wachstum und Stoffwechselfunktionen der verschiedenen Zellen und Zellsysteme koordiniert werden. Die dazu notwendige interzelluläre Kommunikation geschieht durch Übermittlung chemischer Signalstoffe. Drei Formen der Signalübermittlung lassen sich unterscheiden.

- Die auf die Kommunikation zwischen Nervenzellen beschränkte *synaptische* erfolgt durch Neurotransmitter.
- Die *endokrine* ist die langsamste und erfolgt durch Hormone, die über weite Strecken mit dem Blut zum Reaktionsort transportiert werden.
- Die parakrine besteht in der Bildung von instabilen Mediatoren, die nur kurzfristig auf eine Distanz von ca.
 1 µm wirksam sind; sie spielt bei allen Wachstums- und Differenzierungsvorgängen in normalen Geweben, in Tumoren, bei Entzündungen und immunologischen Reaktionen eine entscheidende Rolle.

16

Die Zielzellen verfügen über *Rezeptoren*, mit denen sie selektiv die für ihre Funktion wichtigen Signalstoffe erkennen. Zu unterscheiden sind membranständige (Abb. 1.17) und intrazelluläre Rezeptoren.

Die Liganden der membranständigen *Oberflächenrezeptoren* sind wasser- oder fettlösliche Moleküle. Die Rezeptorproteine binden den Liganden mit hoher Affinität und verwandeln den extrazellulären Impuls, meist ohne dass der Signalstoff in das Zellinnere gelangt, in intrazelluläre Signale, die bestimmte zytoplasmatische Stoffwechselabläufe aktivieren oder hemmen. Ob ein Signal eine aktivierende oder deaktivierende Wirkung hat, variiert manchmal von Empfängerzelle zu Empfängerzelle oder hängt von der Stärke des Signals ab.

Das System der Oberflächenrezeptoren lässt sich mit einem System der elektronischen Signalübermittlung vergleichen. Es besteht aus einem Sender (signalstoffproduzierende Zelle) und einem Empfangsapparat, der das schwache Signal so verstärkt, dass es eine chemische Reaktion in der Empfängerzelle auslöst. So wie die elektronischen Signale eines bestimmten Senders nur bei einer auf den Sender abgestimmten Empfängereinstellung empfangen werden können, kann eine Zelle nur solche chemischen Signale empfangen, für die sie einen passenden Rezeptor hat.

In diesem interzellulären Kommunikationssystem ist das Rezeptorprotein die Empfangsantenne. Entsprechend Stärke und biologischer Bedeutung eines Signals für die spezifische Funktion variiert die Zahl der Rezeptorproteine je nach Rezeptor zwischen 500 und mehr als 100.000 pro Zelle. Das Rezeptorprotein ist mit einem Verstärkersystem verbunden. Man kennt heute drei Verstärkersysteme: ionenkanalgebundene, G-Protein-gebundene und katalytische Rezeptorproteine. Die ionenkanalgebundenen spielen in der Signalübermittlung zwischen Nervenzellen eine Rolle. Die katalytischen Rezeptorproteine sind Transmembranproteine, deren zytoplasmatische Domäne nach Ankupplung des Liganden an die extrazelluläre Domäne als Enzym wirkt. Das effektivste Verstärkersystem ist die Bindung des Rezeptorproteins an ein G-Protein ("GTP-binding regulatory protein"). Unter Vermittlung des G-Proteins wird durch die Reaktion des Rezeptorproteins mit einem Signalmolekül ein an die Plasmamembran gebundenes Enzym oder ein Ionenkanal aktiviert bzw. inaktiviert. Dies löst eine ganze Kaskade von Reaktionen aus, die zu einer Konzentrationserhöhung eines oder mehrerer intrazellulärer Signalmoleküle führt. Die wichtigsten intrazellulären Mediatoren sind zyklische AMP (Adenosinmonophosphorsäure) und Ca++. Sie erst stellen die Energie für die Aktivitätsänderung des spezifischen Zielproteins bereit.

Die *intrazellulären Rezeptoren* verarbeiten in erster Linie Signale von Steroid- und Schilddrüsenhormonen. Diese relativ kleinen hydrophoben Stoffe diffundieren frei durch die Plasmamembran. Im Zytoplasma der Zielzelle angelangt, gehen sie eine reversible Bindung mit



Abb. 1.17 Aufbau eines Transmembranproteinrezeptors

ihrem jeweiligen Rezeptorprotein ein. Durch die damit verbundene Konformationsänderung des Proteinmoleküls wird der Rezeptor aktiviert und seine Affinität zur DNA erhöht, so dass er sich an die für die Regulierung der Transkription zuständigen Gene im Kern anlagert und die transkriptorische Aktivität bestimmter Nachbargene beeinflussen kann. Ein Hormon aktiviert in verschiedenen Zielzellen unterschiedliche Gene. Wahrscheinlich wird nur ein Bruchteil der DNA-Rezeptorbindungen transkriptorisch wirksam.

Eine Zielzelle enthält um die 10.000 *Steroidrezeptoren*. Sie bestehen aus einer karboxylierten Domäne, die das Hormon bindet, einer mittleren Domäne, die sich an die DNA anlagert und einer mit einer Aminogruppe besetzten Domäne, die die Gentranskription aktiviert. Einige intrazelluläre Rezeptoren liegen primär im Zytosol, andere im Kern. Zu den nukleären gehören die Östrogen- und Progesteronrezeptoren.

Bedeutung für die Zytodiagnostik. Die Bestimmung von Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren sowie der Her-2neu-Überexpression hat bei Mammakarzinomen, des EGF-Rezeptors ("epidermal growth factor") unter anderem beim Lungenkarzinom prognostische und therapeutische Bedeutung. Diagnostisch sind vor allem die Liganden verschiedener Oberflächenrezeptoren von Lymphozyten und Makrophagen (Lymphokine, Interleukine) von Bedeutung. Die Rezeptorproteine einer Zelle machen nicht mehr als 0,1% der gesamten Proteinmasse der Zellmembran aus und sind deshalb immunzytochemisch nicht immer einfach nachzuweisen.

Funktionelle Anatomie der Zelle

Literatur

- Arends MJ, Wyllie AH (1991) Apoptosis: Mechanisms and roles in pathology. Academic Press, San Diego New York Boston London Sydney Tokyo Toronto
- Bridger JM, Kill IR, Lichter P (1998) Association of pKi-67 with satellite DNA of the human genome in early G1 cells. Chromosome Res 6: 13–24
- Cremer C, Munkel C, Granzow M et al. (1996) Nuclear architecture and the induction of chromosomal aberrations. Mutat Res 366: 97–116
- 4. Dalquen P, Baschiera B, Chaffard R et al. (1997) MIB-1 (Ki-67) immunostaining of breast cancer cells in cytologic smears. Acta Cytol 41: 229–237
- Derenzini M, Ploton D (1991) Interphase nucleolar organizer regions in cancer cells. Int Rev Exper Pathol 32: 149– 189
- Donnellan R, Chetty R (1998) Cyclin D1 and human neoplasia. J Clin Pathol; Mol Pathol 51: 1–7
- Ji SL, Min CL, Chang SP et al. (1997) Diagnostic value of p53 protein and flow cytometric DNA analysis in the study of serous effusions. Acta Cytol 41: 1719–1725
- Le MN, Hughes RC (1996) Effects of the carbohydratebinding protein galectin-3 on the invasiveness of human breast carcinoma cells. J Cell Physiol 168: 51–58

- 9. Levine AJ (1997) p53, the cellular gatekeeper for growth and division. Cell 88: 323–331
- Mullick SS, Green LK, Ramzy I et al. (1996) p53 gene product in pleural effusions: Practical use in distinguishing benign from malignant cells. Acta Cytol 40: 855–860
- 11. Park M (1991) What is a chromosome? J Pathol 163: 185– 189
- 12. Underwood JCE (1990) Pathology of the nucleus. Springer, Berlin Heidelberg New York
- Verheijen R, Kuijpers HJ, van Driel R et al. (1989) Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen. II. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. J Cell Sci 92: 531–540
- 14. Visser AE, Eils R, Jauch A et al. (1998) Spatial distributions of early and late replicating chromatin in interphase chromosome territories. Exp Cell Res 243: 398–407
- Zink D, Bornfleth H, Visser A et al. (1999) Organization of early and late repli, cating DNA in human chromosome territories. Exp Cell Res 247: 176–188
- Zink D, Cremer T, Saffrich R et al. (1998) Structure and dynamics of human interphase chromosome territories in vivo. Hum Genet 102: 241–251

18

Kapitel 2

Grundlagen der Tumorbiologie

Inhalt

Einleitung	20
Kennzeichnende Eigenschaften des Tumors	20
Onkogenese (Tumorentstehung)	21
Exogene Faktoren	21
Endogene Angriffspunkte der Onkogenese	22
Folgeentwicklung der Onkogenese (Progression)	25
Genetische Instabilität	25

Tumorprogression	26
Invasion und Metastasierung	29
Tumordifferenzierung	29
Morphologische Tumoreinteilung	29
Differenzierung und Malignitätsgrad	29
Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	30
Literatur	30

Einleitung

In weitestem Sinne kann jede Gewebsschwellung als *Tu-mor* (Geschwulst) bezeichnet werden, so z. B. eine Schwellung, die durch vermehrte Flüssigkeitseinlagerung in das Gewebe entsteht. Das klassische Beispiel hierfür ist eine durch einen Insektenstich verursachte Schwellung. Im engeren Sinne wird der Begriff *Tumor* für die Neubildung von Gewebe (Neoplasie) verwendet, wobei es sich sowohl um gutartige als auch um bösartige Neubildungen handeln kann. Der Begriff *Tumor* wird im Folgenden in dieser engeren Bedeutung einer Neubildung verwendet. Wichtig ist zu wissen, dass nicht jeder neoplastische Prozess wie z. B. ein Carcinoma in situ der Cervix uteri unmittelbar als Gewebsschwellung (also Tumor im weiteren Sinne) imponieren muss.

Kennzeichnende Eigenschaften des Tumors

Innerhalb des Gesamtorganismus werden Wachstum und Regeneration eines Gewebes normalerweise durch eine Vielfalt von komplexen Regelmechanismen gesteuert und so eine ausgewogene Entwicklung der einzelnen Organsysteme garantiert. Dem Tumor gelingt es, diese Mechanismen zumindest partiell zu durchbrechen und damit *autonom* zu wachsen, neues Gewebe zu bilden (*Neoplasie*) und eine Gewebsschwellung (*Geschwulst = Tumor*) hervorzurufen. Dazu befähigen ihn sechs Eigenschaften, die er sich einzeln oder in Kombination allmählich im Laufe seiner Entwicklung erwirbt:

- 1. Er produziert eigenständig Wachstumssignale,
- 2. ist unempfindlich gegenüber wachstumshemmenden Signalen,
- 3. entzieht sich dem programmierten Zelltod,
- 4. besitzt eine unbegrenzte Wachstumspotenz,
- 5. induziert eigenständig seine Gefässversorgung und
- hat die F\u00e4higkeit, in die Umgebung einzuwachsen und in anderen Organen Tochtergeschw\u00fclste (*Metastasen*) zu bilden.

Diese sechs Eigenschaften sind aber nicht in jedem Tumor in gleichem Umfang ausgebildet.

Je nach Grad der *Wachstumsautonomie* sind drei Arten von neoplastischen Veränderungen zu unterscheiden:

- Gutartige Tumoren, die gewöhnlich langsam wachsen und sich durch hohe Stabilität ihres Karyotyps, d. h. ihrer chromosomalen DNA auszeichnen. Ihre Ausbreitung beschränkt sich auf den Ort ihrer Entstehung. Oft sind sie gegenüber ihrer Umgebung durch eine Bindegewebskapsel scharf abgegrenzt (Beispiele: Lipome, Adenome der Schilddrüse).
- Prämaligne Veränderungen, die ebenfalls auf den Ort ihrer Entstehung beschränkt bleiben, aber eine mittle-

re Wachstumspotenz und einen instabilen Karyotyp aufweisen und während ihrer Entwicklung zur Wachstumsbeschleunigung (Progression) tendieren (Beispiel: Dysplasie des Portioepithels).

 Maligne Tumoren, die fast immer aus prämalignen Veränderungen hervorgehen und fähig sind, in die Umgebung einzuwachsen und zu metastasieren (Beispiele: Karzinome, Lymphome). Sie wachsen meist rascher als gutartige Tumoren und zeichnen sich durch eine ausgeprägte Instabilität ihres Karyotyps aus. Tumoren, die nur die Fähigkeit zur Invasion in die Umgebung besitzen, aber nicht metastasieren, wurden früher als semimaligne bezeichnet; den biologischen Gegebenheiten angemessener ist es, in diesen Fällen von malignen Tumoren niedrigen Malignitätsgrads zu sprechen, da auch diese Tumoren in seltenen Fällen metastasieren können (Beispiele: Karzinoidtumoren der Lunge, Basalzellkarzinome der Haut).

Mit welcher Geschwindigkeit sich ein Tumor entwickelt, lässt sich anhand morphologischer Kriterien nur grob schätzen. Die Unterschiede des Wachstumsverhaltens sind z. B. beim Bronchuskarzinom im Einzelfall selbst innerhalb eines Differenzierungstyps (Plattenepithel- oder Adenokarzinom) kaum vorhersagbar. Auch die radiologisch feststellbare Verdoppelungszeit (Zeit, in der sich das Tumorvolumen verdoppelt) und die aus 3H-Thymidin-Markierungs- und Mitoseindex am Gewebe bestimmte Generationszeit der Tumorzellen erlauben nur einen begrenzten Einblick in die Entwicklungsdynamik eines Tumors. Zwischen dem an der Verdoppelungszeit ablesbaren tatsächlichen und dem aus der Generationszeit bestimmten potentiellen Wachstum besteht eine beträchtliche Diskrepanz. Aus radiologischen Beobachtungen ist zu folgern, dass bei einem angenommenen Durchmesser der initialen Tumorzelle von 25 µm und einer Verdoppelungszeit von 100 Tagen ein Tumor - gleichbleibendes Wachstum vorausgesetzt - in 5 Jahren einen Durchmesser von 1 mm, nach 7 Jahren von 20 mm und nach 8 Jahren von 50 mm erreichen würde. Der 50 mm große Tumor wäre mit den zur Verfügung stehenden radiologischen Methoden höchstens die letzten 2-3 Jahre seiner achtjährigen Entwicklungszeit klinisch feststellbar! Aus derselben Tumorzelle würde sich dagegen bei einer Generationszeit von 4 Tagen, wie sie bei Bronchuskarzinomen festgestellt wurde - exponentielles Wachstum vorausgesetzt - schon innerhalb von drei bis vier Monaten ein 30 mm im Durchmesser messender Tumor entwickeln [16].

Die Diskrepanz zwischen den beiden Modellrechnungen ist auf eine Reihe von Faktoren zurückzuführen:

 Zellverlustrate: Eine wesentliche Rolle spielen Gene, die die Apoptoserate (s. S. 8) regulieren [30]. Die präkanzeröse Veränderung unterscheidet sich vom invasiven Tumor dadurch, dass sich Proliferation und Apoptose die Waage halten [23].

- Anzahl der teilungsbereiten Zellen im Tumor: Die beiden Berechnungen setzen voraus, dass alle Tumorzellen ständig teilungsbereit sind. Durchflusszytometrische Bestimmungen der S-Phasen-Fraktion der Tumorzellpopulation und immunzytochemische Untersuchungen mit dem mononukleären Antikörper Ki67 (Mib1), der alle Zellen markiert, die sich nicht in G₀-Phase befinden, haben aber gezeigt, dass dies nicht der Fall ist. Der Anteil der Ki67-positiven Zellen ist auch bei Karzinomen desselben Differenzierungstyps großen Schwankungen unterworfen.
- Auto- und parakrine Wachstumsstimulation: Untersuchungen an verschiedenen Tumoren ergaben, dass Tumoren im Laufe ihrer Entwicklung Subklone entwickeln, die in der Lage sind, Wachstumsfaktoren zu produzieren, mit denen sie sich autokrin (aus sich selbst) stimulieren oder parakrin (durch Signale benachbarter Tumorzellen) stimulieren [28].
- Tumor-"Wirt"-Beziehung: Ob sich Tumorzellen überhaupt entwickeln und vermehren können, hängt davon ab, ob sie vom Immunsystem als fremd erkannt werden. Je heterogener eine Tumorzellpopulation ist, desto größer ist jedoch die Wahrscheinlichkeit, dass sie Zellen enthält, die vom Immunsystem nicht als fremd erkannt und deshalb nicht durch natürliche Killerzellen des lymphatischen Systems oder durch Makrophagen eliminiert werden [32]. Umgekehrt kann ein Tumor infolge einer Störung der Immunabwehr des Wirts ungebremst wachsen und bei Erholung des Immunsystems auch wieder abnehmen. Die seltenen Spontanremissionen von Tumoren mögen darin zum Teil eine Erklärung finden.

Zytologie. Der Anteil teilungsbereiter Zellen lässt sich am besten immunzytochemisch mit dem Antikörper MIB1 (Ki67) oder durch Bestimmung der S-Phasen-Fraktion im DNA-Histogramm ermitteln (s. S. 42, 63 und 634).

Onkogenese (Tumorentstehung)

Die Umwandlung einer normalen Körperzelle in eine autonom wachsende Tumorzelle resultiert aus einem komplexen Zusammenspiel endogener und exogener Faktoren. Die exogenen Faktoren, traditionell als Kanzerogene bezeichnet, sind in der Lage, den genetischen Apparat zu stören und über das natürliche Maß hinaus zu destabilisieren und zu modifizieren. Die Kanzerisierung kann dabei durch *"genetische"* und/oder *"epigenetische"* Störungen erfolgen. Als genetisch werden Veränderungen der DNA-Sequenz (Punktmutationen, Deletionen, Translokationen, Amplifikationen) bezeichnet, als epigenetisch Vorgänge, die Genexpression, Transkription und andere Vorgänge den Genomstoffwechsels beeinflussen, ohne direkt die Nukleotide im DNA-Strang zu verändern.

Exogene Faktoren

Die wichtigsten *Kanzerogene* sind chemische Substanzen, ionisierende Strahlen, Ultraviolettstrahlen und Viren (Tabelle 2.1). Die Mechanismen, mittels derer Kanzero-

Tabelle 2.1Durch einige kanzerogen wirkende Mutagene hervorgerufene Mutationen [22] und daraus resultierende Tumoren. A: Adenin,C: Cytosin, G: Guanin, T: Thymidin

Mutagenes/onkogenes Agens	Mutation	Tumor
Chemische Substanzen		
Benzpyren (Zigarettenrauch) Nitrosamin Akridinfarbstoffe	$G \to T/G \to C$	Bronchus-, Urothel- und andere Karzinome Urothelkarzinome, hepatozelluläres Karzinom
Aflatoxin (aus Schimmelpilzen) Vinylchlorid	$\begin{array}{l} \mathbf{G} \rightarrow \mathbf{T} \\ \mathbf{A} \rightarrow \mathbf{T}/\mathbf{T} \rightarrow \mathbf{A} \end{array}$	Hämangioendotheliosarkom
Mineralien		
Asbest		Bronchuskarzinom, Mesotheliom
Strahlen		
UV-Licht Röntgenstrahlen		Hauttumoren: Basalzellkarzinom, Plattenepithelkarzinom, malignes Melanom, Leukämie, Karzinome
Viren		
Human papilloma virus (HPV) Hepatitis-B-Virus (HBV) Epstein-Barr-Virus (EBV) Human T-cell leukemia virus (HTLV)	$C \rightarrow T$	Dysplasien und Karzinome der Portio Hepatozelluläres Karzinom Burkitt- und andere Lymphome Lymphome der T-Zell-Reihe

Kapitel 2





Abb. 2.2 Kanzerogenese am Modell von Bronchialkarzinom und Mesotheliom. Aus dem Zigarettenrauch stammende und unter dem Einfluss von Teerprodukten und Asbest aus aktivierten Entzündungszellen freigesetzte Sauerstoffradikale verursachen epigenetische Störungen und Genmutationen

Abb. 2.1 Typen der genetischen Störung. a Punktmutation = Einbau einer falschen Purinbase in ein Gen; b Amplifikation = Einbau zusätzlicher DNA-Sequenzen mit Genfunktion in den DNA-Strang;
c Deletion = Verlust eines Gens oder Chromosomenabschnitts;
d Translokation = Umlagerung einer DNA-Sequenz von einem Chromosom (grünes Zentromer) auf ein anderes (rotes Zentromer)

gene den DNA-Strang schädigen, sind komplex. Manche *chemischen Kanzerogene* wie zyklische Kohlenwasserstoffe bewirken ganz bestimmte *Punktmutationen*, indem sie den Einbau eines bestimmten falschen Nukleotids (z. B. Thymidin statt Guanidin) in den DNA-Strang begünstigen (Abb. 2.1a) [30]. Für eine relativ nukleotidspezifische Wirkung spricht die Beobachtung, dass bestimmte Karzinomtypen mit bestimmten Risikofaktoren korreliert sind. So werden kleinzellige Karzinome hauptsächlich bei Rauchern beobachtet, während Nichtraucher, sofern sie überhaupt an einem Bronchuskarzinom erkranken, weit eher ein Adenokarzinom entwickeln [15].

Die kanzerogene Wirkung *onkogener Viren* beruht auf ihrer Fähigkeit, bestimmte DNA- oder RNA-Sequenzen, die für die Proliferationssteuerung der Zelle von Bedeutung sind, zu amplifizieren (Abb. 2.1b). Dadurch wurden die Protoontogene (s. unten) überhaupt erst entdeckt, von denen man inzwischen weiß, dass sie nicht nur durch Viren, sondern auch durch andere Mutagene zu Onkogenen transformiert werden.

Auch *Sauerstoffradikale* bewirken DNA-Mutationen. Die Radikale können unmittelbar durch das Kanzerogen, besonders durch ionisierende Strahlen oder mittelbar über eine Stimulation der neutrophilen Granulozyten generiert werden (Abb. 2.2) [20]. Indem hohe Kanzerogendosen durch einen zusätzlichen toxischen Effekt die Regenerationsvorgänge im Gewebe beschleunigen, steigern sie über die aus den Entzündungszellen freigesetzten Sauerstoffradikalen über ihren unmittelbaren mutagenen Effekt hinaus ihre karzinogene Wirkung. Umgekehrt kann allerdings auch die toxische Wirkung mancher Kanzerogene das Wachstum der nichtneoplastischen Zellen hemmen, so dass die durch ihre mutagene Wirkung hervorgerufenen Mutanten einen Wachstumsvorteil erhalten.

Endogene Angriffspunkte der Onkogenese

Genetische Störungen (Mutation). Ein Neoplasma lässt sich als genetische Erkrankung definieren. Der entscheidende endogene Faktor, der die Tumorentstehung begünstigt, ist die Instabilität des genetischen Apparates, d. h. die Neigung des DNA-Stranges zu spontanen oder durch äußere Einflüsse induzierten Veränderungen. Die Möglichkeit von onkogenen Genmutationen ist die Kehrseite einer natürlichen genetischen Instabilität, ohne die eine Evolution der verschiedenen Tier- und Pflanzenarten auf der Erde nicht möglich gewesen wäre. Die DNA-Sequenz kann gestört sein aufgrund *hereditärer* und/oder *somatischer* Mutationen. Neben den bereits er-

22

wähnten *Punktmutationen* durch Einbau einzelner fehlerhafter Nukleotide in den DNA-Strang und *Genamplifikationen* durch mehrfachen Einbau einer Gensequenz sind weiter *Deletionen* von Teilen des DNA-Stranges oder eines Chromosoms und *Translokation* ganzer Abschnitte des DNA-Stranges von einem Chromosom auf ein anderes zu unterscheiden (s. Abb. 2.1 und Abb. 2.3). Auswirkungen der Translokationen sind entweder die Bildung eines Gens mit veränderten Aktivitätseigenschaften oder eine veränderte Genregulation durch Umlagerung eines Wildtypgens in den Bereich eines gewebsspezifisch aktivierten Promoters (Beispiel: Burkitt-Lymphom).

Dass die Instabilität des Genoms für die Tumorentstehung eine Rolle spielt, zeigt sich unter anderem bei bestimmten angeborenen Erkrankungen mit einer über das natürliche Maß hinaus gehenden Häufung genetischer Störungen (Xeroderma pigmentosum, Werner-Syndrom). Patienten, die an einer derartigen Erbkrankheit leiden, entwickeln häufiger Tumoren als genetisch unbelastete Menschen. Für die Tumorentstehung sind im Wesentlichen Störungen der DNA-Sequenz (Mutationen)



Abb. 2.3 Numerische Genomveränderungen, wie sie sich mit FISH darstellen (*grün*: Genprobe, *rot*: Zentromerprobe) **a** Normalbefund (diploid); **b** Polysomie (tetraploid); **c** Gendeletion (heterozygot); **d** Gendeletion (homozygot); **e** Genzugewinn; **f** Anisosomie und Genzugewinn; **g** intrachromosomale Genamplifikation; **h** extrachromosomale Genamplifikation

- Suppressorgene: Sie kodieren tumorhemmende Proteine, die potentiell maligne Zellen eliminieren und in Apoptose überführen ("gatekeeper") oder die Akkumulation onkogen wirksamer Mutationen der DNA verhindern ("caretaker"). Tumorsuppressorgene sind stets rezessiv, d. h. erst die Schädigung beider Allele wirkt stark tumorfördernd.
- Onkogene sind tumorbegünstigende Gene. Sie sind stets dominant, d. h. die Überexpression eines Allels wirkt bereits onkogen. Folge der Onkogenüberexpression ist beispielsweise die Produktion von Wachstumsfaktoren oder Wachstumsfaktor-ähnlichen Molekülen. Beispiele solcher Faktoren sind Peptidhormone wie EGF ("epidermal growth factor"), TGF-α ("transforming growth factor alpha") und IGF-2 ("insuline-like growth factor"). Sie aktivieren proliferationsrelevante Rezeptoren und fördern die Produktion von Steuerproteinen, die die Empfindlichkeit gegenüber Transkriptionsfaktoren erhöhen oder die Zellen aus der G₀-Phase in den Zellzyklus eintreten lassen [2, 4, 27, 30].
- 3. *Reparaturgene:* Sie kodieren Proteine, die Zellen mit Genomschäden erkennen, deren weitere Proliferation verhindern und sie der Apoptose zuführen. Auch Tumorsuppressorgene fungieren teilweise als Reparaturgene, indem sie Proteine kodieren, die bei der Zellteilung entstandene Fehler der Replikation des genetischen Materials beseitigen.

Diese drei Gengruppen bilden ein integrales Funktionsnetz, das gleichzeitig verschiedene Stoffwechselvorgänge kontrolliert, so dass die Funktion des einzelnen Gens oft schwer zu entschlüsseln ist. Sie sind wesentlich für die Stabilität des Genoms auf Nukleotidebene verantwortlich. Außerdem überlagern sich nicht selten hereditäre DNA-Konstellationen und durch außergenomische Einflüsse erworbene Genmutationen:

• Keimbahnstörungen: Hierunter sind Fehler einer DNA-Sequenz zu verstehen, die im Unterschied zu den während des Lebens erworbenen somatischen Mutationen von einer Generation zur nächsten vererbt werden. Modellbeispiel ist das Retinoblastom, das sich häufig auf dem Boden eines angeborenen Defekts des Rb-Suppressorgens (Deletion 13q14) entwickelt. Das Gen steuert die Differenzierung embryonaler Retinoblasten zu postmitotischen retinalen Photorezeptorzellen und Neuronen. Liegt eine homozygote hereditäre Keimbahnmutation vor, wird also das mutierte Gen von beiden Eltern auf das Kind übertragen, erkrankt das Kind schon bald nach der Geburt. Bei Individuen, die nur ein mutiertes Rb-Gen besitzen, entwickelt sich erst ein Tumor, falls eine somatische Mutation des ursprünglich unveränderten zweiten Gens hinzukommt. Der Tumor entwickelt sich daher, wenn überhaupt, erst später. Die im Erwachsenenalter auftretenden sporadischen Retinoblastome sind Folge somatischer Mutationen durch erworbene Inaktivierungen beider Rb-Gene.

- Erworbene (somatische) Mutationen: Die Replikation der DNA während der Zellteilung ist ein hoch komplexer Vorgang. Trotzdem sind Genmutationen infolge Fehlkopien der DNA extrem selten. Sie nehmen zu, wenn die Zellteilung durch äußere Einflüsse, d. h. durch die mutagene Wirkung von Kanzerogenen gestört wird. Für die Vulnerabilität der Mitosephase spricht, dass niedrig differenzierte multizelluläre Organismen (z. B. Fliegen), bei denen die meisten Zellen nach Abschluss der Ontogenese in G₀-Phase übergehen, nicht an Tumoren erkranken, sondern nur höher entwickelte Organismen, bei denen sich auch nach Abschluss der Ontogenese im Rahmen der Regeneration noch viele Zellen weiter teilen. Die beiden erwähnten hereditären Erkrankungen, das Xeroderma pigmentosum und das Werner-Syndrom wie das Retinoblastom von Patienten mit nur einem angeboren mutierten Gen sind Beispiele für das Zusammenwirken von Keimbahnstörungen und somatischen Mutationen.
- Selten reicht eine singuläre Mutation ("one hit") zur Entstehung eines Tumors aus [18]. Ebenfalls selten ist die "Two-hit-Kanzerisierung"; Modellbeispiele hierfür sind das Retinoblastom und ein Teil der Wilms-Tumoren. In der weit überwiegenden Mehrzahl der Neoplasien sind jedoch mehrere Hits notwendig, ehe sich ein klinisch manifester Tumor entwickelt. Selbst das Vorhandensein eines "Mutator"-Phänotyps mit einer erhöhten Anzahl von Mutationen wie bei den genannten Erbkrankheiten reicht meist nicht für die Tumorentstehung aus. Spürbar ändert sich das Wachstumsverhalten eines Gewebes erst, wenn mehrere die Proliferation kontrollierende Gene mutieren. Die Onkogenese erfolgt also schrittweise, begünstigt durch den Einfluss von Karzinogenen, gelegentlich in Kombination mit einer hereditären Keimbahnstörung. Bei der Mehrzahl der Tumoren machen sich die ersten Mutationen in der Vorläuferzelle kaum bemerkbar. Erst aus deren Nachkommen entwickelt sich nach mehreren

sekundären genetischen und epigenetischen Mutationen (Hits) über viele Zellgenerationen hinweg die maligne Tumorzellpopulation. Ehe ein maligner Tumor manifest wird, können je nach Art und Ausmaß der initiierenden genomischen Störung 10, 20 oder mehr Jahre vergehen.

Epigenetische Störungen. Epigenetische Störungen sind im Unterschied zu den genetischen potentiell reversibel. Unter den verschiedenen heute bekannten epigenetischen Störungen, stehen abnorme DNA-Methylierung und pathologische RNA-Interferenz an erster Stelle (Tabelle 2.2).

Störungen der DNA-Methylierung: Ein Teil der DNA • ist physiologischerweise methyliert. Die Methylierung von regulatorischen Sequenzen moduliert unter anderem die Genexpression (Abb. 2.4). Besonders die CpG-Inseln (Cytosin-Phosphatidyl-Guanin-Dinukleotide), die sich in der Umgebung etwa der Hälfte aller Gene finden, sind als Promoter für die An- und Abschaltung der Gene wichtig. Cytosin ist chemisch labil; durch oxydative Desaminierung wird es zu Thymin, durch Methylierung zu Uracil. Die Methylierung des Promoteren von Tumorsuppressor- und DNA-Reparaturgenen führt zur Abschaltung ("silencing") der betroffenen Gene und trägt dadurch wesentlich zur Kanzerogenese bei. Methylierungsstörungen werden ausgelöst durch Chemikalien, Viren, Entzündungen, Alterung der Zelle und Folsäuremangel (Mangel an Vitaminen B₆ und B₁₂) infolge Mangelernährung im Alter oder Resorptionsstörungen, z. B. bei chronischer atrophischer Gastritis. Auch Gendefekte können zu Störungen des Monokarbonstoffwechsels und zu einer De-novo-Methylierung führen und dadurch die Karzinogenese beschleunigen [5, 6, 14, 33, 34].

Einige Untersuchungsbefunde sprechen dafür, dass auch *Hypomethylierung*, also der Verlust von Methylgruppen, zur Aktivierung von Onkogenen wie cMYC und H-RAS führt. *Hypomethylierung* scheint außerdem über eine Aktivierung latenter Retrotransposons (s. unten) zur tumortypischen chromosomalen Instabilität beizutragen.

Tabelle 2.2 Beispiele von Hypermethylierungen im Bereich verschiedener Gene bei malignen Tumoren

Gen	Auswirkung auf	Tumortyp
Rb	Zellzykluskontrolle	Retinoblastom
MLH1	Mutationsrate	Karzinome von Kolon, Ovar und Endometrium
BRCA1	Genomische Instabilität	Mammakarzinom
E-CAD	Zellmotilität	Karzinome von Mamma, Lunge und Magen
P16	Zellzykluskontrolle	Viele Tumortypen
VHL	Proteindegradation	Nierenzellkarzinom
GSTP1	Oxydative DNA-Schäden	Prostatakarzinom

Folgeentwicklung der Onkogenese (Progression)



Abb. 2.4 Methylierung der Promoterregion. Die polymerasegesteuerte Transkription von DNA- zu RNA-Sequenzen wird durch Methylierung von Cytosin innerhalb der DNA-Sequenz verhindert

Die DNA-Methylierung kann weiterhin ebenso wie Störungen von Phosphorylierung, und Azetylierung über eine *Histonmodifikation* zur Strukturveränderung des Chromatins führen und so die Genexpression beeinflussen, wie umgekehrt eine primäre Histonveränderung den Prozess der DNA-Methylierung einleiten kann [7].

RNA-Interferenz (RNAi): Sie ist ebenfalls ein natürlicher Mechanismus zur Abschaltung von Genen auf transkriptionaler und posttranskriptionaler Ebene. Beispielsweise ist die RNAi für die Infektabwehr von Bedeutung. Dabei unterdrücken sequenzspezifische siRNA ("small interfering RNA") und miRNA ("microRNA") die Expression bestimmter Gene. Störungen der RNAi können zur Onkogenese beitragen, indem sie in eine Unterdrückung der Expression eines Gens münden [7]. Synthetisch hergestellte siRNA werden insbesondere in der Forschung eingesetzt, um gezielt Genfunktionen zu unterdrücken. Es besteht die Hoffnung, RNA-interferenzbasierte Medikamente zur Krebstherapie einzusetzen, z. B. um die Überexpression des HER2- und EGFR-Gens (beides Onkogene) zu unterdrücken [8, 11, 29].

Zytologie. Eine ganze Reihe von Tumoren weist charakteristische, diagnostisch wichtige Translokationen auf, die sich mit molekularbiologischen Methoden darstellen lassen. Das klassische Beispiel ist die reziproke Translokation zwischen den Chromosomen 9 und 22 bei der chronischen myeloischen Leukämie, die zur Bildung des mikroskopisch nachweisbaren Philadelphia-Chromosoms und zur Aktivierung des für die Thyrosin-Kinase-Produktion verantwortlichen ABL-Onkogens führt. Zugleich ist diese Translokation das klassische Beispiel für eine One-hit-Kanzerisierung, was die medikamentöse Unterdrückung der Thyrosin-Kinase-Aktivität mit Gleevec® und damit die Entwicklung der CML stoppt. Weitere diagnostisch wichtige Translokationen siehe Tabelle 24.8, S. 519 und Tabelle 27.6, S. 596. Ebenfalls am Zellausstrich können bestimmte (epi-)genetische Veränderungen molekularbiologisch identifiziert werden, die eine prognostische oder sogar prädiktive Bedeutung haben wie z. B die Amplifikation von Her-2/neu- und EGFR-Gen.

Folgeentwicklung der Onkogenese (Progression)

Genetische Instabilität

In einem fortgeschrittenen Stadium der Onkogenese weisen die meisten Karzinomzellen infolge genetischer und epigenetischer Störungen eine Vielzahl von Veränderungen auf, die das Genom über das natürliche Maß hinaus destabilisieren. Die genetische Instabilität ist nicht nur ein Motor der Onkogenese, sondern ein Faktor, der wesentlich zur *Tumorprogression* (= Steigerung des aggressiven Verhaltens) beiträgt [24]. Sie erstreckt sich allmählich zunehmend auf allen Ebenen des Genoms. Hervorzuheben sind folgende Phänomene:

- Mikrosatelliteninstabilität: Mikrosatelliten sind kurze, repetitive, nichtkodierende DNA-Sequenzen mit gleicher Nukleotidabfolge. Bei familiären Kolonkarzinomen wurde beobachtet, dass sie häufig mit Mutationen der Reparaturgene hMSH2 auf Chromosom 2 oder hMLH1 auf Chromosom 3 verknüpft sind [19, 25]. Viele Tumoren weisen am Ende ihrer Entwicklung hunderte oder gar tausende von Veränderungen der DNA-Sequenz auf [1]. Ist der Karyotyp der transformierten Zellen derart destabilisiert, kommt es selbst ohne weitere Einwirkung eines Kanzerogens zu sekundären Mutationen, die die gleichen Gene betreffen wie die karzinogeninduzierten und nicht von diesen zu unterscheiden sind. Diese sekundären Mutationen sind Folge der Proliferationsbeschleunigung, die in der Mitosephase zu einer Steigerung der "Druckfehlerrate" bei der Chromosomenverdoppelung führt. Die DNA-Druckfehler können wegen defekter Reparaturgene weder repariert noch eliminiert werden, z. B. weil kein funktionstüchtiges Protein p53 zur Verfügung steht. Es resultieren neue Punktmutationen, Deletionen, Translokalisationen und Amplifikationen von Genen. Zusätzlich führt die Wachstumsbeschleunigung zu einer Zunahme der epigenetischen Störungen.
- Chromosomale Instabilität: Die Chromosomen bleiben von den schweren sich über das gesamte Genom ausbreitenden Veränderungen nicht verschont. Zur Entwicklung der chromosomalen Instabilität tragen unterschiedliche pathogenetische Mechanismen bei. Inter- und intrachromosomale Rekombinationen resultieren aus Störungen der Mitosespindel (s. S. 7), die zu inäqualen und endomitotischen Kernteilungen führen. Ausdruck der Kernteilungsstörungen sind atypische Mitosen mit Ausbildung von Triastern, Riesenkernen und Tumorriesenzellen (Abb. 2.5).

Kapitel 2



Abb. 2.5 Atypische Mitose einer Tumorzelle in Anaphase mit Ausbildung eines Triasters (525×)

Eine besondere Rolle spielen Veränderungen der Telomere. Das Ende eines jeden Chromosoms bilden komplexe Ribonukleoproteine. Diese Telomere bestehen aus sich wiederholenden Sequenzen des guaninreichen Hexanukleotids TTAGGG, die sich über eine Länge von bis zu 15.000 Basen des DNA-Strangs erstrecken und an eine Anzahl unterschiedlicher Proteine gebunden sind. Wahrscheinlich sollen sie verhindern, dass benachbarte Chromosomen in der mitotischen Segregationsphase an ihren Enden auseinander brechen und fusionieren. Normalerweise gehen bei jeder Zellteilung 50 bis 200 Basenpaare verloren, was wesentlich zum Alterungsprozess der Zellen beiträgt. Diese Erosion der Telomere wird durch toxische Noxen und oxydativen Stress verstärkt. Dem wirkt die Telomerase entgegen. Das Enzym ist für das Überleben der Spezies unerlässlich. Während Telomerase in den meisten differenzierten somatischen Zellen inaktivist, stabilisiert sie in embryonalen Zellen und Keimzellen durch Verlängerung der Telomere die Chromosomen und verhindert die Alterung dieser Zellen. Wie experimentell nachgewiesen, können auch Tumorzellen immortalisiert werden, indem Telomerase durch Mutation von Onkogenen und Funktionsstörungen von p53 und p16 aktiviert wird. Tatsächlich exprimieren die Zellen von ca. 90% aller malignen Tumoren Telomerase [13, 17, 31]. Die Tumorzellpopulation wird durch die chromosomalen Veränderungen immer polymorpher. Der gesamte Karyotyp verändert sich.

Tumorprogression

Zum Verständnis des Ursprungs eines Tumors wurden verschiedene Modelle entwickelt. Am Anfang der Entwicklung steht mindestens eine *teilungsfähige Zelle*, nach einer anderen Vorstellung gehören dazu mehrere in ihrem Wachstumsverhalten veränderte Zellen (Abb. 2.6).



Abb. 2.6 Modelle der Tumorentwicklung. a Alle Zellen einer Tumorzellpopulation stammen von einer Vorläuferzelle (Stammzelle) ab und tragen daher ein bestimmtes Merkmal, was aber eine epigenetisch entstandene Polyklonalität hinsichtlich anderer Zellmerkmale nicht ausschließt (Beispiel: Plasmozytom, s. S.. 499); b das Kanzerogen schädigt mehrere Zellen eines Epithels ("Feldläsion"), der Tumor entwickelt sich bei Kollision von Zellpopulationen, die aus verschiedenen mutierten Vorläuferzellen hervorgegangen sind und sich gegenseitig parakrine Wachstumsstimulation beeinflussen [21] (bisher nicht eindeutig bewiesen); c Das derzeit am meisten favorisierte Modell der Onkogenese: Tumor entwickelt sich aus einer Stammzelle; erst die Epigenese führt zu zunehmender Polyklonalität der Tumorzellpopulation (vgl. Abb. 2.10 und 2.11)

Folgeentwicklung der Onkogenese (Progression)



Abb. 2.7 Stammzellkonzept. Aus der Vereinigung der haploiden männlichen und weiblichen Keimzelle entsteht die omnipotente zur Selbstreproduktion fähige diploide embryonale Stammzelle; aus dieser entstehen die Keimbahnstammzellen und die multipotenten adulten Stammzellen; aus Letzteren wiederum gehen die oligopotenten adulten Stammzellen und nach weiteren Mitosen die determinierten Stammzellen hervor. Diese sind das Reservoir ("Reservezellen") bestimmter, sich lebenslang erneuernder, terminal differenzierter Gewebe. Hauptsächlich aus adulten Stammzellen entwickeln sich Stammzellen maligner Tumoren

Diese Voraussetzung erfüllen die in allen Geweben vorkommenden *adulten Stammzellen*, die sich über Zwischenstufen aus *embryonalen Stammzellen* herleiten (Abb. 2.7). Sie sind *multipotent* oder *oligopotent* und bereits stärker auf die Entwicklung organspezifisch differenzierten Zellen festgelegt. Zu *Tumorstammzellen* werden sie von den wenigen hereditären Tumoren abgesehen (Retinoblastom, s. oben) unter dem Einfluss der oben besprochenen genotoxischen Noxen. Der Weg vom ersten "Hit" bis zum voll entwickelten malignen Tumor führt über zunächst sich noch gutartig verhaltende, teilweise sogar reversible Veränderungen, Präneoplasien (*Dysplasie* und *Carcinoma in situ*) bis hin zum aggressiv und invasiv wachsenden und schließlich metastasierenden malignen Tumor (Abb. 2.8).

Ihre scheinbar unerschöpfliche Teilungsfähigkeit erlangen die am Anfang dieses Prozesses stehenden Tumorstammzellen nach neueren noch weitgehend hypothetischen Vorstellungen, wenn die Telomere der Chromosomen so weit abgeschmolzen sind, dass eine geordnete Mitose nicht mehr möglich ist (Abb. 2.9 und 2.10). Die der Mitose vorausgehenden Vorgänge kommen nach Abschluss der S-Phase zum Stillstand. Es entsteht eine tetraploide Zelle, die sich nur noch amitotisch, d. h. durch Abschnürung eines Teils des Zellkerns ohne Ausbildung einer Kernspindel teilen kann. Bei dieser amitotischen Kernteilung entstehen aneuploide, meist peridiploide Zellen mit numerischer Chromosomenaberration, die wieder in die Mitosephase eintreten können. Diese eigentlichen Tumorstammzellen sind, wie oben dargestellt, in der Lage, Telomerase zu produzieren und wieder Telomere aufzubauen. Aber auch in den Tumorzellen schreitet die Erosion der Telomere bei jeder Mitose voran und führt schließlich in die "mitotische Katastrophe", aus der die Zelle möglicherweise durch eine weitere Neosis her-



Abb. 2.8 Mehrschrittkanzerogenese am Beispiel des Kolonkarzinoms nach Fearon u. Vogelstein [9]. DCC-Gen (deleted in colorectal cancer), DPC4 (Deleted in pancreatic carcinoma, locus 4), JV18-1 (Smad2). Andere Abkürzungen siehe Text

ausfindet [26]. Dies begünstigt die Fusion und Rekombination von Chromosomen und trägt damit wesentlich zur Steigerung der chromosomalen Instabilität bei.

Die geschädigten Zellen entwickeln auf diese Weise mehr und mehr Eigenschaften, durch die sie sich funktionell und phänotypisch immer weiter von den Zellen des Ausgangsgewebes entfernen. Die Polymorphie der Tumorzellen nimmt zu. Sie ist Ausdruck der allmählich entstandenen *Polyklonalität der Tumorzellpopulation*. Die polyklonale Tumorzellpopulation entwickelt sich erst allmählich aus einer wahrscheinlich anfangs monoklonalen Zellpopulation. Wichtigstes Argument für die Abstammung aller Tumorzellen von einer gemeinsamen Vorläuferzelle ist das Vorliegen identischer genomischer Verän-





Abb. 2.9 Entwicklung von Tumorstammzellen. a Mit jeder Mitose einer adulten Stammzelle verkürzen sich die Telomere (*rot*) der Chromosomen; sind die Telomere abgeschmolzen, ist eine mitotische Zellteilung nicht mehr möglich: Die gealterte Zelle geht in Apoptose (*dunkelrot*) oder wird nach Abschluss der S-Phase zur tetraploiden Zelle (TPZ), die sich nur noch amitotisch durch Ausknospen des Zellkerns bei erhaltener Kernhülle teilen und dadurch zur Neosis-Mutterzelle (NMZ) werden kann. **b** Entgeht die NMZ infolge epigenetischer oder genetischer Störung dem programmierten Zelltod (z. B. infolge Mutation des die Apoptose einleitenden p53-Gens), so gewinnt sie bei dieser quasi meiotischen Teilung unter Wiederherstellung der Telomeraseaktivität ihre Fähigkeit zur Mitose zurück, jedoch zum Preis einer inäqualen Teilung, die zu peridiploiden (aneuploiden) Tochterzellen führt

Abb. 2.10 Entwicklung einer heterogenen Tumorzellpupulation durch Neosis (nach [26]). Der in Abb. 2.6 dargestellte Vorgang wiederholt sich auch im Tumor mehrfach. In das Endstadium der Seneszenz angelangte Zellen (*weiß*) befinden sich in der mitotischen Krise. Aus ihnen werden die Neosis-Mutterzellen, die nach wiedergewonnener Telomeraseaktivität (*hellgelb*) Eigenschaften von Tumorstammzellen (TSZ) besitzen. Aus ihnen gehen wiederum seneszente Zellen (*in zunehmenden Rottönen*) hervor. Mit jeder Neosis nimmt die genetische Instabilität der Tumorzellpopulation weiter zu, und aus zunächst peridiploiden Zellen entstehen auch ohne äußere genotoxische Einflüsse immer höhergradig aneuploide und polymorphe Zellen. *ESZ* embryonale Stammzellen, *DSZ* determinierte Stammzellen, *TPZ* tetraploide Zelle, *NMZ* Neosis-Mutterzelle, *RZ* reife Zellen, *AZ* apoptotische Zellen



derungen in allen Zellen eines Tumors (Abb. 2.11). Ein besonders gutes Beispiel ist das identische *Rearrangement der Immunglobulingene* der Zellen eines Lymphoms.

Zytologie. Die chromosomale Instabilität führt zu den mikroskopisch fassbaren Kernveränderungen, die das wichtigste zytologische Kriterium der malignen Transformation einer Zelle darstellen. Die Kernveränderungen korrelieren mit der im DNA-Histogramm nachweisbaren Aneuploidie. Die Variabilität und Heterogenität der Genstörungen können das zytologische Erscheinungsbild eines Tumors über einen gewissen Zeitraum hinweg tiefgreifend verändern. Wegen der schier unendlichen Kombinationsmöglichkeiten genetischer Störungen gewinnt jeder Tumor sein individuelles Gesicht.

Invasion und Metastasierung

Mutationen einer Vielzahl von Genen, die die Expression der dazu notwendigen Proteine, Proteasen und Adhäsionsmoleküle steuern, ermöglicht es den Tumorzellen, *invasiv* zu wachsen, die *Neoangiogenese* anzuregen und zu *metastasieren*.

Zytologie. Der immunzytochemische Nachweis derartiger Zellprodukte und der molekularbiologische Nachweis der Genveränderungen wurde bislang nur vereinzelt zur Bestimmung der Prognose eines Tumors genutzt [10].

Tabelle 2.3 Allgemeine Tumoreinteilung

Epitheliale	Gutartige: Adenome, Papillome
Tumoren	Bösartige: Karzinome
Mesenchymale	Gutartige: Lipome, Leiomyome,
(Weichteil-)	Chondrome
Tumoren	Bösartige: Sarkome, maligne Lym- phome
Neuroektodermale	Gutartige: Hautnävi
Tumoren	Bösartige: Hirntumoren, Melanome
Gemischdifferen-	Gutartige: Fibroadenome, Hamartome
zierte Tumoren	Bösartige: Karzinosarkome

Tumordifferenzierung

Die meisten Untersucher nehmen heute an, dass die tumorassoziierten Genomveränderungen nicht nur das Wachstumsverhalten, sondern auch die Zelldifferenzierung beeinflussen, wobei allerdings die Wachstumsbeschleunigung allein schon die Verwirklichung des Differenzierungsprogramms einer Zelle behindert. In rasch wachsenden Tumoren bleibt den Tumorzellen nicht genügend Zeit, sich auszudifferenzieren.

Dennoch sind viele Tumoren ähnlich differenziert und zeigen lichtmikroskopisch, elektronenmikroskopisch sowie immunzytochemisch ein ähnliches Erscheinungsbild und ähnliche Zellorganellen wie ihr Ursprungsgewebe: In der Mundschleimhaut, im Ösophagus und an der Portio uteri, deren Schleimhäute von Plattenepithel bedeckt sind, entstehen Plattenepithelkarzinome, im drüsigen Epithel der intestinalen Schleimhäute Adenokarzinome. Das respiratorische Epithel, das unterschiedliche Differenzierungen aufweist, ist Ausgangspunkt von neuroendokrinen, plattenepithelialen und adenomatösen Karzinomen.

Morphologische Tumoreinteilung

Da die Differenzierung vieler Tumoren Rückschlüsse auf ihren Ausgangspunkt zulässt, scheint es gerechtfertigt, die Tumoren nach histogenetischen Gesichtspunkten einzuteilen. Eine moderne Tumoreinteilung muss aber für Ergänzungen offen sein, wenn sich mit immunzytochemischen und molekularbiologischen Methoden feinere und vielleicht sogar prognostisch wichtige Differenzierungsunterschiede herauskristallisieren.

Entsprechend den Hauptdifferenzierungsrichtungen sind im Wesentlichen epitheliale, mesenchymale, neuroekdermale und gemischt differenzierte Tumoren zu unterscheiden (Tabelle 2.3). Feinere Einteilungen finden sich in den Organkapiteln des speziellen Teils. Bedeutung für die Zytologie. Die morphologische Ähnlichkeit zum Ursprungsgewebe geht oft einer Ähnlichkeit im Genexpressionsmuster parallel. Dementsprechend gibt es immunzytochemische Hilfsmittel, die die Zuordnung von Tumoren zu ihrem Ursprungsgewebe zulassen. Ein Beispiel ist PSA (prostataspezifisches Antigen), das ein zuverlässiger Marker für Prostatakarzinome darstellt. Andere ursprünglich als gewebsspezifisch deklarierte Marker deuten weniger zuverlässig auf ein bestimmtes Ausgangsgewebe eines Tumors hin. So wird Cdx2 zwar von fast allen Kolonkarzinomen, gelegentlich aber auch von Magen-, Gallenwegs- und Pankreaskarzinomen exprimiert. TTF1 ("thyroid transcription factor") wird zwar von vielen Schilddrüsenkarzinomen und Adenokarzinomen der Lunge exprimiert, aber auch von allen kleinzelligen Karzinomen unabhängig von ihrem Ausgangsgewebe.

Differenzierung und Malignitätsgrad

Die Höhe der Differenzierung korreliert im Allgemeinen mit dem Malignitätsgrad. Je "unreifer" eine Tumorzelle ist und je stärker sie sich damit dem blastären oder embryonalen Zustand annähert, desto leichter überwindet sie die ihr durch den "Wirtsorganismus" gesetzten Ausbreitungsschranken. Umgekehrt gilt für viele Tumoren: Je geringer der Anteil niedrig differenzierter Tumorzellen, desto besser sind die Überlebenschancen des Patienten [12]. Die Ausnahme von dieser Regel betreffen einige entdifferenzierte Tumoren, die heute einer erfolgreichen Chemotherapie zugänglich sind.

Die Differenzierungsparameter wechseln von Tumor zu Tumor. Bei Plattenepithelkarzinomen lässt sich die Höhe der Differenzierung am Anteil verhornter Zellen, bei Adenokarzinomen am Anteil tubulär gebauten Tumorgewebes ablesen. Darauf beruht eines der ältesten Grading-Systeme, wonach die Tumoren in vier Gruppen (25%, 50%, >50% oder 100% des Tumors unvollständig differenziert) eingeteilt werden [12].

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Ein Tumor im Sinne eines neoplastischen Prozesses ist eine in erster Linie durch autonomes Wachstum gekennzeichnete genetische Erkrankung und resultiert aus dem Zusammenspiel von exogenen kanzerogenen Noxen und der natürlichen Veränderbarkeit des Genoms. Tumorfördernd wirken besonders die durch die Kanzerogene verursachten Mutationen im Bereich von Onkogenen, Tumorsuppressorgenen und DNA-Reparaturgenen. Nach heutiger Vorstellung steht am Anfang des neoplastischen Prozesses die Tumorstammzelle. Sie leitet sich aus einer pluripotenten, mehr oder minder determinierten adulten Stammzelle ab. Bei Umwandlung einer gesunden in eine neoplastische Stammzelle dürfte neben den Kanzerogenen die natürliche, mit jeder Mitose fortschreitende, mit Telomerverlust der Chromosomen einhergehende Zellalterung eine wichtige Rolle spielen. Beobachtungen sprechen dafür, dass dem endgültigen Übergang in eine Tumorstammzelle ein durch Telomerverlust bedingte "mitotische Katastrophe" vorausgeht. Infolge Telomerverlusts ist die Zelle am Ende der S-Phase nicht mehr fähig zur mitotischen Teilung. Vermutlich entsteht eine tetraploide Zelle, aus der durch amitotische Teilung peridiploide neoplastische Zellen hervorgehen. Diese können zwar zunächst die Fähigkeit zur Mitose zurückgewinnen, unterliegen dann aber zumindest teilweise der gleichen mit Telomerverlust einhergehenden Alterung ihrer Chromosomen. Der mit der Bildung einer Tumorstammzelle eingeleitete Prozess führt zu einer sich steigernden Instabilität des Genoms und zu einer Beschleunigung der Zellproliferation und zunehmend aggressiverem Wachstumsverhalten des Tumors.

Alle diese sich im Genombereich abspielenden Vorgänge wirken sich auf das morphologische Erscheinungsbild der neoplastischen Zellen aus. Dies macht sie der zytologischen Diagnostik z. B. mittels FISH zugänglich (s. Abb. 2.3). Aber auch die Veränderungen auf molekularer Ebene lassen sich immunzytochemisch und mit molekularbiologischen Methoden an einzelnen Zellen untersuchen, wodurch sich zytologisch in sehr vielen Fällen Aussagen zu Diagnose, Prognose und Therapie einer Neoplasie treffen lassen.

Literatur

- Arzimanoglou II, Gilbert F, Barber HR (1998) Microsatellite instability in human solid tumors. Cancer 82: 1808–1820
- Bast RC Jr, Boyer CM, Jacobs I et al. (1993) Cell growth regulation in epithelial ovarian cancer. Cancer 71: 1597–1601
- Bissig H, Richter J, Desper R et al. (1999) Evaluation of the clonal relationship between primary and metastatic renal cell carcinoma by comparative genomic hybridization. Am J Pathol 155: 267–274
- Chigira M, Noda K, Watanabe H (1990) Autonomy in tumor cell proliferation. Med Hypotheses 32: 249–254
- Choi SW, Friso S (2005) Interactions between folate and aging for carcinogenesis. Clin Chem Lab Med 43: 1151–1157
- 6. Das PM, Singal R (2004) DNA methylation and cancer. J Clin Oncol 22: 4632–4642
- El-Osta A (2004) The rise and fall of genomic methylation in cancer. Leukemia 18: 233–237
- Engels BM, Hutvagner G (2006) Principles and effects of microRNA-mediated post-transcriptional gene regulation. Oncogene 25: 6163–6169
- Fearon ER, Vogelstein B (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 61: 759–767
- Funamoto Y, Nagai M, Haba R et al. (2002) Hyaluronan synthesis by anaplastic large cell lymphoma with massive lymphomatous effusion. A case report. Acta Cytol 46: 864–868
- Hannon GJ, Rossi JJ (2004) Unlocking the potential of the human genome with RNA interference. Nature 431: 371– 378
- Henson DE (1988) The histological grading of neoplasms. Arch Pathol Lab Med 112: 1091–1096
- Jefford CE, Irminger-Finger I (2006) Mechanisms of chromosome instability in cancers. Crit Rev Oncol Hematol 59: 1–14
- Jones PA, Laird PW (1999) Cancer epigenetics comes of age. Nat Genet 21: 163–167
- Kabat GC, Wynder EL (1984) Lung cancer in nonsmokers. Cancer 53: 1214–1221
- Kerr KM, Lamb D (1984) Actual growth rate and tumour cell proliferation in human pulmonary neoplasms. Br J Cancer 50: 343–349
- Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR et al. (1994) Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. Science 266: 2011–2015
- Knudson AG (2001) Two genetic hits (more or less) to cancer. Nat Rev Cancer 1: 157–162
- Lindblom A, Tannergard P, Werelius B et al. (1993) Genetic mapping of a second locus predisposing to hereditary non-polyposis colon cancer. Nat Genet 5: 279–282
- 20. Loft S, Poulsen HE (1996) Cancer risk and oxidative DNA damage in man. J Mol Med 74: 297–312
- McGrath EJ, Gall EA, Kessler DP (1952) Bronchiogenic carcinoma, a product of multiple sites of origin. J Thorac Surg 24: 271–283

- Minamoto T, Mai M, Ronai Z (1999) Environmental factors as regulators and effectors of multistep carcinogenesis. Carcinogenesis 20: 519–527
- Nettesheim P, Klein-Szanto AJ, Marchok AC et al. (1981) Studies of neoplastic development in respiratory tract epithelium. Arch Pathol Lab Med 105: 1–10
- 24. Nowak MA, Komarova NL, Sengupta A et al. (2002) The role of chromosomal instability in tumor initiation. Proc Natl Acad Sci USA 99: 16226–16231
- Peltomaki P, Aaltonen LA, Sistonen P et al. (1993) Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. Science 260: 810–812
- Rajaraman R, Guernsey DL, Rajaraman MM et al. (2006) Stem cells, senescence, neosis and self-renewal in cancer. Cancer Cell Int 6: 25
- Rasmussen AA, Cullen KJ (1998) Paracrine/autocrine regulation of breast cancer by the insulin-like growth factors. Breast Cancer Res Treat 47: 219–233
- Renner U, Pagotto U, Arzt E et al. (1996) Autocrine and paracrine roles of polypeptide growth factors, cytokines

and vasogenic substances in normal and tumorous pituitary function and growth: a review. Eur J Endocrinol 135: 515–532

- 29. Rychahou PG, Jackson LN, Farrow BJ et al. (2006) RNA interference: mechanisms of action and therapeutic consideration. Surgery 140: 719–725
- Shackney SE, Shankey TV (1997) Common patterns of genetic evolution in human solid tumors. Cytometry 29: 1–27
- 31. Shay JW, Wright WE (1996) Telomerase activity in human cancer. Curr Opin Oncol 8: 66–71
- Uchida A, Fukata H (1993) Role of NK cell cytotoxic factor against fresh human tumors. Nat Immun 12: 267–278
- Ushijima T, Okochi-Takada E (2005) Aberrant methylations in cancer cells: where do they come from? Cancer Sci 96: 206–211
- Verma M, Srivastava S (2002) Epigenetics in cancer: implications for early detection and prevention. Lancet Oncol 3: 755–763

Kapitel 3

Zytologische Tumorkriterien

3

Inhalt

Einleitung	34
Mikroskopische Malignitätskriterien	34
Malignitätskriterien 1. Ordnung: Kernkriterien	35
Malignitätskriterien 2. Ordnung	37
Malignitätskriterien 3. Ordnung	39
Malignitätsdiagnose durch Zusatzmethoden	40
Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)	40
Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	40
Immunzytochemie	40
Histochemie	41
DNA-Zytometrie	41

Zytomorphometrie	42
Automatisches Screening	42
Kriterien zur Bestimmung des Tumortyps	42
Kernkriterien	42
Zytoplasmakriterien	43
Immunzytochemische Kriterien	43
Molekularbiologische Kriterien	43
Bestimmung des Atypiegrades (Grading)	43
Prognostische Parameter	44
Prädiktive Parameter	44
Literatur	44

Einleitung

Die zytologischen Tumorkriterien entsprechen grundsätzlich Veränderungen, die auch im histologischen Präparat nachweisbar sind. Doch im Unterschied zur Histologie kommt es in der Zytologie fast ausschließlich auf das Erscheinungsbild der Einzelzelle an. Die strukturelle Beziehung der einzelnen Zellen zu ihren Nachbarzellen lässt sich zytologisch nur sehr eingeschränkt beurteilen. Diese Einschränkung des Kriterienspektrums bedingt denn auch eine Einengung der diagnostischen Möglichkeiten. So lassen sich, wie bereits im vorigen Kapitel erwähnt, an einzelnen, aus dem Gewebsverband herausgelösten Zellen zytologisch hauptsächlich neoplastische und weniger nichtneoplastische Krankheiten diagnostizieren.

Lange Zeit wurde selbst das von vielen Pathologen bestritten. Erst allmählich wurde klar, dass sich auch die zytologische Tumordiagnose ähnlich wie die histologische aus einem Mosaik von Zellparametern ergibt, mehr noch, dass es möglich ist, zytologisch nicht nur die Malignität und Differenzierung eines Tumors zu bestimmen (*tumordiagnostische Parameter*), sondern auch Aussagen zum klinischen Verlauf (*prognostische Parameter*) und zu Behandlungsmöglichkeiten (*prädiktive Parameter*) zu machen.

Heute gehören die nachfolgend besprochenen *zytologischen Tumorkriterien* zum Rüstzeug eines jeden Zytopathologen. Mit geringen Abweichungen gelten sie für alle Teilgebiete der Zytopathologie. Doch die modernen molekularbiologischen Methoden, die zum Teil besonders erfolgreich gerade an zytologischem Untersuchungsmaterial anwendbar sind, ermöglichen oft noch eine eindeutige Entscheidung.

Mikroskopische Malignitätskriterien

Grundsätzlich gilt, dass mit zunehmendem Malignitätsgrad eines Tumors, d. h. mit Zunahme der DNA-Aneuploidie, die Zellmorphologie insgesamt zunehmend von der Morphologie der Zellen des Ausgangsgewebes abweicht (Abb. 3.1). Doch lassen sich maligne Tumoren und ihre



Abb. 3.1 Schematische Darstellung der zytologischen Malignitätskriterien. a Normale Plattenepithelzelle, b Verlust der zytoplasmatischen Ausreifung und Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kerns, c Vergrößerung der Kontaktfläche zwischen Kern und Zytoplasma, d Steigerung der Proteinsynthese, erkennbar an Nukleolenvergrößerung, e Vermehrung der Kern-DNS und Störung des Verhältnisses von Eu-/Heterochromatin = zuverlässigstes und wichtigstes Kriterium der Malignität

Vorstufen fast immer an der *Chromatinstruktur* und einigen anderen Anomalien der Kerne diagnostizieren. Die Kernkriterien gelten daher als *Malignitätskriterien 1. Ordnung*. Als *Malignitätskriterien 2. Ordnung* sind nukleoläre und zytoplasmatische Veränderungen zu betrachten, da sie inkonstant sind und in ähnlicher Form auch bei nichtneoplastischen, insbesondere regeneratorischen Zellen anzutreffen sind. Die *Malignitätskriterien 3. Ordnung* sind indirekte Zeichen des Vorhandenseins eines Tumors, die sich aus seinem raschen Wachstum und seiner Neigung, nekrotisch zu zerfallen, ergeben (Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1 Zusammenfassung der zytologischen Malignitätskriterien

Kriterien 1. Ordnung	Kriterien 2. Ordnung	Kriterien 3. Ordnung
Struktur des Heterochromatins Kernhintergrund Kerngröße Hohe Kern-Plasma-Relation Kerngrößenvariabilität (Anisokariose) Kernform Kernmembran	Mehrkernigkeit Nukleolenatypie Verlust der Kohäsivität Hyperchromasie des Zytoplasmas Mitosen	Quetschempfindlichkeit Ausstrichhintergrund Zellkannibalismus

Von seltenen Ausnahmen abgesehen darf eine *maligne Neoplasie* nur diagnostiziert werden, wenn die Kriterien 1. Ordnung erfüllt sind. Nur dann ist die zytologische Malignitätsdiagnose ebenso unumstößlich sicher wie eine histologische Malignitätsdiagnose. Die Kriterien 2. und 3. Ordnung sind dagegen lediglich Hilfskriterien und nicht unbedingt für die Diagnose einer malignen Neoplasie notwendig.

Im Gegensatz zu den bösartigen sind *gutartige Tumoren* zytologisch selten diagnostizierbar, weil sich ihre Zellen meist nicht von den Zellen des normalen Gewebes unterscheiden und die Chromatinabweichungen zu gering sind.

Malignitätskriterien 1. Ordnung: Kernkriterien

Struktur des Kernchromatins. Die Chromatinstruktur ist als Repräsentant des gesamten chromosomalen Materials der empfindlichste Gradmesser für Normabweichungen des Genoms und damit das wichtigste Malignitätskriterium. Deshalb stützt sich die folgende Beschreibung der verschiedenen Phänomene, sofern nicht ausdrücklich auf eine andere Färbung hingewiesen wird, auf Befunde an feucht fixierten und nach Papanicolaou gefärbten Präparaten, da so die nukleären Details am besten zur Darstellung kommen.

Wie in Kap. 1 dargestellt, geben die dem inaktiven *He*terochromatin entsprechenden Chromatingranula dem Zellkern eine charakteristische Struktur, da trotz ständiger Bewegung der Kernmatrix jedem Chromosom ein bestimmtes Territorium innerhalb des Kerns zukommt [6, 24–26]. Bei malignen Tumoren ist die Chromatinstruktur oft schon deutlich verändert, wenn Kerngröße und Kernform nur geringe Abweichungen erkennen lassen. Sie weist in vielen Fällen sogar auf den histologischen Typ des Tumors hin.

Die besondere Chromatinstruktur von Kernen maligner Zellen resultiert aus mehreren Veränderungen [8]:

- Das Heterochromatin ist grobkörnig und teilweise verklumpt,
- es ist oft entlang der Kernmembran verdichtet,
- die Größe der einzelnen Chromatingranula schwankt stärker als im gesunden Zellkern und
- die Verteilung der Chromatingranula im Kern ist unregelmäßiger als in den Kernen nichtneoplastischer Zellen. Durch die variable Kerngröße und die ungleichmäßige Verteilung des Heterochromatins im Zellkern entsteht die für viele Tumoren typische "Pfeffer-und-Salz-Struktur" (Abb. 3.2);
- Veränderungen des nukleären Matrixproteins

Kernhintergrund. Bei manchen Tumoren ist so wenig Kernmaterial im Heterochromatin kondensiert und das Heterochromatin so weitgehend an die Kernmembran

Abb. 3.2 Zellen eines Adenokarzinoms. Nur leicht hyperchromatische vesikuläre Kerne, "Pfeffer-und-Salz-Struktur" des Kernchromatins, Verdichtung der Kernmembran, plumpe Nukleolen, diskrete mikrovakuoläre Auflockerung des Zytoplasmas (PapF, 840×)



Abb. 3.3 Deutliche Kernhyperchromasie. Kernhintergrund erscheint dunkel violett, typisch für Zellen von Urothel- und Plattenepithelkarzinomen (PapF, 525×)

angelagert, dass der Kernhintergrund zwischen den Chromatinkörnern aufgehellt ("nuclear clearing") und der Kern insgesamt vesikulär (bläschenförmig) erscheint. Bei anderen Tumoren ist der Kernhintergrund stärker blau-grau angefärbt. Ist der DNA eine große Menge azidophilen Kernproteins angelagert, nimmt der Kernhintergrund eine eher violette Färbung an (Abb. 3.3).

Diese Kernhyperchromasie kommt teils durch die Vermehrung des basophilen *Euchromatins*, teils durch Schrumpfung der Kerne zustande, zu der besonders die Kerne hochmaligner Tumoren aufgrund ihrer genomischen Instabilität neigen. Das gilt besonders für die Zellkerne kleinzelliger Bronchuskarzinome, die im Sputum meist stark hyperchromatisch, in Feinnadelaspiraten oder Ergüssen dagegen transparent und feingranulär erscheinen (s. Abb. 13.50 und 14.29). Auch bei bronchioloalveolären Karzinomen erscheinen die Kerne der im Sputum nachweisbaren Tumorzellen kleiner und stärker hyperchromatisch als im Bronchialsekret. Bei den Plattenepithelkarzinomen ist die Kernhyperchromasie teils auch dadurch bedingt, dass die Kerne der keratinisierten Zellen schon infolge der physiologischen Kerninvolution zur Kernschrumpfung neigen (s. S. 36). Außerdem hängt die Färbung des Kernhintergrundes von Fixation, Präparation und Färbetechnik ab. Als Malignitätskriterium ist sie daher nur bedingt verwertbar.

Kerngröße und Kern-Plasma-Relation. Eines der auffälligsten Malignitätskriterien ist die Vergrößerung des Tumorzellkerns im Vergleich zu den Zellkernen des Ausgangsgewebes. Die Kerne sind größer als es dem Reifungsgrad der Zellen entspricht und die Kern-Plasma-Relation, d. h. das Verhältnis von Kern- zu Zytoplasmadurchmesser, ist zugunsten der Zellkerne verschoben. Die Zunahme der Kerngröße ist aber nur dann als Malignitätskriterium zu werten, wenn auch die Chromatinstruktur pathologisch verändert ist. Kernvergrößerung ohne Atypie ist häufig Folge einer Polyploidisierung, d. h. einer Verdoppelung oder Vervierfachung des Chromosomensatzes. Tetra- und oktaploide Zellen werden beispielsweise beobachtet im gesunden Urothel und in der Leber, in der Endozervix von Frauen nach längerer Einnahme von Ovulationshemmern, in verschiedenen Epithelien bei Folsäure- und Vitamin-B12-Mangel und bei Entzündungen sowie in Schilddrüsenepithelien degenerativ veränderter Strumaknoten.

Kerngrößenvariabilität (Anisokariose). Die Kerngröße von Tumorzellen schwankt meist viel stärker als in Zellen nichtneoplastischer Gewebe. Darin zeigt sich die im Vergleich zu Normalgeweben wesentlich ausgeprägtere *Heterogenität der Tumorzellpopulation* (s. Kap. 2).

Kernform. Die Variabilität der Kernform (Kernpolymorphie) ist besonders dann ein wichtiges Malignitätskriteri-



Abb. 3.4 Nukleäre Pseudoinklusion. Zytoplasmainvagination in den Zellkern; das Phänomen täuscht lichtmikroskopisch eine Kernvakuole vor (PapF, 840×)

um, wenn sie innerhalb einer Zellpopulation von Zelle zu Zelle wechselt und kein Zellkern dem anderen gleicht. Die Kerne vieler Tumorzellen sind infolge Buchtungen, Kerbungen und Ausstülpungen der Kernmembran entrundet. Durch Einstülpungen des Zytoplasmas in den Zellkern kommen nukleäre Pseudoinklusionen zustande, die Kernvakuolen oder "Lochkerne" vortäuschen können (Abb. 3.4). Oft sind diese Veränderungen sehr diskret. Bei Mammakarzinomen, deren Kernform oft nur wenig von der üblichen Rundung abweicht, gelten bereits kleine Ecken und Kanten als Malignitätszeichen. Manchmal zeigen in einem Tumor alle Zellen die gleiche Abweichung von der normalen Kernform, was auf ihre monoklonale Abstammung hinweist. Grundsätzlich, d. h. von Ausnahmen abgesehen, korreliert das Ausmaß der Kernpolymorphie mit dem Malignitätsgrad.

Die *Kernpolymorphie* ist nicht nur Folge der auf S. 28 beschriebenen Heterogenität der Tumorzellen. Zellen

Vesikuläre Kerne mit deutlich entwickelten Nukleolen
Embryonenartig gebuchtete Kerne
Lavabrockenähnliche Kerne (s. Abb. 13.39 und 13.40)
Kerne schmiegen sich ineinander ("nuclear moulding"; Abb. 14.28)
Intranukleäre Vakuolen, Kernkerben ("grooves"), feine eosinophile Nukleolen (s. Abb. 20.19)
Feingranulierte ovale bis spindelige Kerne (s. Abb. 20.20 und 20.21)
Baguette-artig geformte Kerne mit in Längsrichtung hintereinander gelegenen feinen eosinophilen Nukleolen (s. Abb. 20.24)
Kaffeebohnenartig gekerbte Kerne
Kernchromatin radiär segmentiert (s. Abb. 24.21)
Fein- bis grobretikuläre Chromatinstruktur (s. Abb. 25.10)

schnell wachsender Tumoren versuchen, den gesteigerten Anforderungen ihrer erhöhten Stoffwechselaktivität und der damit verbundenen Steigerung des Stoffaustauschs zwischen Zytoplasma und Kern gerecht zu werden, indem sie durch Faltung und Buchtung der Kernmembran die Berührungsfläche zwischen Kern und Zytoplasma vergrößern. Durch Proliferation der Membran kommt es zu fingerförmigen Ausstülpungen des Kerns in das angrenzende Zytoplasma und umgekehrt zu Invaginationen von Zytoplasma in den Zellkern. Auch Kontraktionen der zytoplasmatischen Mikrotubuli und Filamente sowie Sekretansammlungen im Zytoplasma können die Kerne deformieren.

Veränderungen der Kernform sind kein obligates Tumorkriterium. Sie können bei manchen malignen Tumoren vollständig fehlen. Bei weitgehend monoklonalen Tumoren wie manchen Lymphomen weist sogar gerade die Zellmonomorphie auf den Tumor hin und erlaubt die Abgrenzung von der polymorphen Zellpopulation einer reaktiven Lymphadenitis. Doch in der Mehrzahl der Tumoren ist die Kernpolymorphie bei gleichzeitiger Veränderung der nukleären Chromatinstruktur ein besonders zuverlässiges Malignitätskriterium, sofern degenerative Zellveränderungen und Schädigungen durch Viren, Strahlen oder chemische Substanzen (Zytostatika) ausgeschlossen sind.

Kernmembran. Was lichtmikroskopisch als starre Membran erscheint, ist in Wirklichkeit die Momentaufnahme eines dynamischen Austauschprozesses zwischen Kernsubstanz und endoplasmatischem Retikulum, der bei Tumoren oft besonders intensiv ist. Daher ist bei vielen Tumoren die Kernmembran abschnittsweise oder vollständig durch Chromatinanlagerung, durch verstärkte Membranproliferation oder infolge degenerativer Veränderungen verdickt. Die Membranverdickung ist allerdings wie Hyperchromasie und Anisokaryose nicht tumorspezifisch, sondern kommt auch bei virusinfizierten und nichtneoplastischen degenerativ veränderten Zellen vor. Bei Virusinfekten wird das Kernchromatin durch die nukleären Viruseinschlusskörper an den Kernrand gedrängt. Bei Zelldegeneration und Zelltod entstehen Brüche und Risse in der Kernmembran, die schließlich zum Kernzerfall (Karyorrhexis) führen.

Malignitätskriterien 2. Ordnung

Mehrkernigkeit. Endomitotische Teilungen sind bei Tumorzellen keine Seltenheit. Dahinter dürften sich in erster Linie Störungen der Mitosespindel verbergen. Die Kernteilung ist häufig inäqual, was zu zwei- oder mehrkernigen Tumorzellen mit unterschiedlich großen Kernen oder von Zellen mit kleinen Satellitenkernen führt. Die Mehrkernigkeit als solche ist kein Malignitätskriterium, aber in



Abb. 3.5 Neoplastische Urothelzellen. a Ein großer atypischer Kern und kleiner Nebenkern, **b** mehrkernige Zelle mit unterschiedlich großen Kernen (PapF, 525×)

Verbindung mit anderen neoplastischen Kernveränderungen ein wertvolles Zusatzkriterium (Abb. 3.5).

Nukleolenatypie. Die Instabilität der Tumor-DNA findet ihren Niederschlag auch in Fehlbildungen der Nukleolen. Dem unterschiedlichen Grad der DNA-Störung und dem unterschiedlichen Proliferationsverhalten entsprechend ist die Nukleolenatypie von Tumor zu Tumor und innerhalb einer Tumorzellpopulation variabel. Als Hinweis auf einen Tumor ist zu werten, wenn ein Kern mehrere voll entwickelte, doch unterschiedlich große, sogar atypisch geformte und an die Kernperipherie verlagerte Nukleolen enthält (s. Abb. 1.11).

Nukleolen sind nur unmittelbar vor und nach der Kernteilung voll entwickelt (s. S. 10). Deshalb sind sie in sehr *rasch wachsenden Tumoren*, in denen sich nur wenige Zellen in der G_0 -Phase befinden (Beispiel: kleinzelliges Bronchuskarzinom), nicht gut oder nur in Form von mehreren Chromozentren zu sehen. In anderen Tumoren ermöglicht langsames Wachstum die Entstehung voll entwickelter, oft deutlich hervortretender Nukleolen. Wenn die Zellen des Ausgangsgewebes kaum wahrnehmbare Nukleolen aufweisen und das im Vergleich dazu gesteigerte Proliferationsverhalten und die zunehmende Differenzierung der Tumorzellen aber eine Steigerung der Proteinsynthese und



Abb. 3.6 Formen der Zellanordnung. a Plattenförmig, b tubulär, c kugelförmige Morula, d polyzyklisch begrenzte Morula, e papilliform, f papillär (mit Bindegewebsachsen), g ausknospender Zellverband, h zeilenförmig ("indian file"), i isoliert liegend

damit eine erhöhte Ribosomenproduktion erfordern, kann die Nukleolenvergrößerung sogar ausnahmsweise zu einem erstrangigen Malignitätskriterium werden (Beispiel: Prostatakarzinom; s. Abb. 11.7 und 11.8).

Prominente Nukleolen sind allerdings keineswegs immer Ausdruck einer neoplastischen Veränderung. Sie kommen in den verschiedensten normalen stoffwechselaktiven Zellen vor (Beispiele: Leberzellen, Zellen eines jeden Regenerationsepithels, Fibroblasten). Deshalb dürfen sie nur dann als *Malignitätshinweis* gewertet werden, wenn sie im Vergleich zu den Nukleolen des Ursprungsgewebes eindeutig vergrößert und in Form und Zahl eindeutig atypisch sind.

Verlust der Kohäsivität. Der Verlust der Kohäsivität erklärt sich aus dem Verlust der interzellulären Bindeapparate (Desmosomen, Zonulae occludentes, Zonulae adhaerentes), die umso weniger aufgebaut werden können, je rascher ein Tumor wächst. Da die interzellulären Bindungen zu den wichtigsten Zelldifferenzierungen epithelialer Gewebe gehören, ist der Kohäsivitätsverlust hauptsächlich bei Karzinomen ein Malignitätskriterium. Er ist bei entdifferenzierten Tumoren ausgeprägter als bei hochdifferenzierten. Die Zellen entdifferenzierter Karzinome neigen daher im Gegensatz zu normalen Epithelzellen zur Loslösung aus dem Zellverband und bilden oft lockere Haufen ("nuclear crowding") oder liegen einzeln über den Ausstrich verstreut. Nur die Zellen ganz hoch differenzierter Karzinome bewahren im zytologischen Ausstrich ihre platten- oder tapetenförmige Anordnung im Zellverband (Abb. 3.6). Dies gilt jedoch nur mit Einschränkung für hoch differenzierte verhornende Plattenepithelkarzinome, bei denen nur die Zellen aus den tieferen Schichten ihre Fähigkeit zur Verbandbildung beibehalten, während die verhornten Zellen wie die Hornschuppen der Epidermis als Einzelzellen abschilfern.

In Körperhöhlenergüssen kann der Kohäsivitätsverlust das Auffinden von Karzinomzellen erschweren, besonders wenn sich die Tumorzellkerne (z. B. diploides invasives lobuläres Mammakarzinom, s. S. 187) wenig von den Zellkernen der Makrophagen unterscheiden. In Ergüssen ist daher der Nachweis von Zellverbänden ein wichtiges Hilfskriterium der Malignität.

Da die Kohäsivität von Zellen *mesenchymaler Tumoren* generell wie im normalen mesenchymalen Gewebe gering ist, stellt sie bei diesen kein relevantes Kriterium dar.

Hyperchromasie des Zytoplasmas. Das Zytoplasma maligner Tumoren ist häufig im Vergleich zum Zytoplasma der nichtneoplastischen Zellen der Umgebung verstärkt basophil oder eosinophil. Die Basophilie ist auf einen gesteigerten RNA-Gehalt, die Eosinophilie auf eine erhöhte Eiweißsynthese und/oder Vermehrung und Vergrößerung der Mitochondrien zurückzuführen. Diese Zytoplasmaeigenschaften sind äußerst unzuverlässige Malignitätszeichen.

Mitosen. Bei malignen Tumoren findet man meist eine Vermehrung der Mitosen. Der Mitoseindex (angegeben als Anzahl Mitosen/10 HPF (= "high power fields", Gesichtsfelder bei 400facher Mikroskopvergrößerung) ist bei manchen mesenchymalen Tumoren das einzige zuverlässige histologische Malignitätskriterium. In zytologischen Ausstrichen ist der Mitoseindex selbst bei hoher Zellularität weniger gut bestimmbar als im histologischen Präparat, so dass, von mesenchymalen Tumoren abgesehen, Mitosen nur in Verbindung mit weiteren Malignitätskriterien als Zeichen der Malignität zu werten sind. Will man im zytologischen Präparat genaueren Aufschluss über die Proliferationskapazität gewinnen, empfiehlt sich die immunzytochemische Bestimmung der Ki-67-positiven Zellfraktion [7]. Atypische Mitosen (s. Abb. 2.5) sind ein wichtiger Hinweis auf das Vorliegen eines malignen Tumors, werden selten aber auch einmal in nichtneoplastischen Geweben beobachtet.

Malignitätskriterien 3. Ordnung

Fragilität (Quetschempfindlichkeit). Die Instabilität maligner Tumorzellen drückt sich auch in einer erhöhten Fragilität aus. Sie ist wahrscheinlich Folge einer Störung des Zytoskelettaufbaus und bei unreifzelligen Tumoren besonders ausgeprägt. Kleinzellige Bronchuskarzinome und Lymphome sind dafür die besten Beispiele. Bei Lymphomen, insbesondere bei der chronischen lymphatischen Leukämie, können im Ausstrich die "Gumprecht'schen Schatten" auftreten (Abb. 3.7).

Ausstrichhintergrund. Instabilität der Tumorzellen und unzureichende Blutversorgung exophytisch wachsender



Abb. 3.7 Gumprecht'sche Schatten. *Links* von Erythrozyten umlagerte degenerativ veränderte Zelle eines großzelligen Lymphoms, *rechts* vitale Tumorzellen, unterhalb der *Mitte* ein isoliert liegender Lymphozyt (Liquor, MGG, 525×)



Abb. 3.8 Scheinbarer Zellkannibalismus ("Cell-in-cell"-Phänomen), Erguss mit vereinzelten sich eng umschließenden Zellen eines Adenokarzinoms (PapF 525×)

Tumoren führt zu oberflächlichen Exulzerationen, Nekrosen und Blutungen, die sich zytologisch im Ausstrichhintergrund als feinkörniger zytoplasmatischer und erythrozytärer Detritus ("schmutziger Hintergrund") zu erkennen geben. Das Phänomen wird nicht ganz korrekt als "Tumordiathese" bezeichnet (Diathese ist eigentlich die besondere Veranlagung oder *Bereitschaft* zu einer Krankheit oder krankhaften Reaktion, der Detritus aber ist *Folge* der Verletzlichkeit und Instabilität der Tumorzellen).

"Zellkannibalismus". Oft beobachtet man bei Karzinomen, dass eine Tumorzelle eine andere umfließt ("cellin-cell phenomenon", Abb. 3.8) oder dass das Zytoplasma von Tumorzellen zumindest scheinbar neutrophile Granulozyten enthält. Dabei handelt es sich bei beiden Phänomenen in aller Regel nicht um eine Phagozytose durch die Tumorzellen. Das Umschließen einer Tumorzelle durch eine andere ist eher ein abnormes Kohäsionsphänomen. Die Überlagerung der Tumorzellen durch neutrophile Granulozyten deutet möglicherweise auf eine Phagozytose durch die Granulozyten hin, ausgelöst durch von den Tumorzellen produzierte chemotaktische Stoffe, die die neutrophilen, manchmal auch eosinophilen Granulozyten anlocken. Echter Zellkannibalismus scheint jedenfalls selten vorzukommen.

Malignitätsdiagnose durch Zusatzmethoden

Die genannten lichtmikroskopischen Malignitätskriterien erlauben es, die meisten Tumoren ohne weiteres zu diagnostizieren. Schwierigkeiten treten auf, wenn

- eine zytologische Probe nur wenige neoplastische Zellen enthält und
- sich die Zellen eines malignen Tumors so wenig von den Zellen des Normalgewebes oder der gutartigen Variante des Tumors unterscheiden, dass die üblichen lichtmikroskopischen Kriterien versagen.

Ersteres kommt in Körperhöhlenergüssen, Liquor cerebrospinalis und Urin vor. Das zweite Problem stellt sich vor allem in der Schilddrüsen- und Lymphomdiagnostik, teilweise auch bei der Diagnose von Urotheltumoren in Urin und Harnblasenspülflüssigkeit. In diesen Fällen hilft der Einsatz von Zusatzmethoden weiter. Mehr zu den einzelnen Methoden s. Kap. 28.

Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)

Die Methode ist unmittelbar am zytologischen Ausstrich anwendbar. Mittels zentromer- und genortspezifischen DNA-Sonden lassen sich numerische Chromosomenaberrationen, Translokalisationen und Genamplifikationen auf Einzelzellniveau nachweisen [2, 3, 13]. Die Methode ist in der Malignitätsdiagnose empfindlicher als die DNA-Zytometrie (s. unten). Heute sind Sonden mit DNA-Sequenzen der meisten Chromosomen kommerziell erhältlich. Zu speziellen Genorten passende Sonden geben über Onkogene und Tumorsuppressorgene Aufschluss (Abb. 3.9).

Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die auch an zytologischen Proben anwendbare Methode dient unter anderem dem Nachweis eines *DNA-Rearrangements* bei Lymphomverdacht, setzt allerdings eine DNA-Extraktion aus den lymphomverdächtigen Zellen voraus. Dazu müssen die Zellen vom Objektträger abge-



Abb. 3.9 Polysomie und Genamplifikation: Hier Polysomie 17 mit 4 bis 5 grünen Signalen und Amplifikation des HER2/neu Onkogens mit wolkenartigen, stark vermehrten Gensignalen

kratzt und damit die Präparate zumindest teilweise zerstört werden [1, 12, 14, 23]. Die Anwendung der Methode ergibt sich aus der Herleitung des Tumors aus einer Stammzelle: Das DNA-Rearrangement ist ein physiologischer Vorgang, der es einem B-Lymphozyten ermöglicht, einen spezifischen, gegen ein bestimmtes Antigen gerichteten Antikörper zu produzieren und einem T-Lymphozyten, spezifische Antigenrezeptoren zu exprimieren. Normalerweise wird bei einer immunologischen Reaktion eine polyklonale Lymphozytenpopulation mit vielen Subpopulationen aktiviert, von denen jede jeweils einen bestimmten Antikörper produziert. Die Zellen eines malignen Lymphoms sind dagegen, da von einer Stammzelle abgeleitet, gewöhnlich *monoklonal* und zeigen alle dasselbe DNA-Rearrangement.

Der Prozess des Genrearrangements ist äußerst komplex und kann daher hier nur sehr vereinfacht an einem Beispiel des B-Zell-Rearrangements dargestellt werden (Abb. 3.10): Die für die Produktion der schweren Kette eines Immunglobulins zuständige RNA wird von einem Gen (14q32) kodiert. Das Gen besteht aus mehreren Segmenten (V, D, J, C), die wiederum jeweils nach Art eines Strichcodes aus mehreren DNA-Sequenzen bestehen. Durch Rekombination bestimmter Sequenzen (Rearrangement) entsteht eine nahezu unbegrenzte Zahl möglicher DNA-Kombinationen, die in mRNA transkribiert werden können. Damit ist die Produktion einer ebenso unbegrenzten Anzahl von Antikörpern möglich. Das J-Segment besteht aus 6 verschiedenen DNA-Sequenzen.

Immunzytochemie

Die Methode wird häufig zur Unterstützung der Tumordiagnostik in Ergüssen, seltener in anderen zytologischen

T-Zell-Rezeptor (TCR_γ) in Keimbahnkonfiguration



Rearrangement



Insertion von Nukleotiden



Allel nach Rearrangement

Abb. 3.10 Rearrangement des T-Zell-Rezeptor-Gens, ermöglicht normalerweise antigenspezifische immunologische Reaktion. Bei

T-Zell-Lymphomen sind die Tumorzellen in der Regel bzgl. TCRc-Rearrangements monoklonal. Siehe auch Text

Proben angewendet [16]. In Ergüssen der serösen Körperhöhlen kommen normalerweise keine epithelialen Zellen vor. Werden mittels Immunzytochemie epitheliale Zellen gefunden, stammen sie fast immer aus einem malignen Tumor (s. S. 336). Die Domäne der Immunzytochemie ist zweifellos die Diagnose des Tumortyps und nicht die Malignitätsdiagnose.

Histochemie

Histochemische Untersuchungen sind auch an zytologischen Präparaten einsetzbar. In der Tumordiagnostik findet die schon mehrfach erwähnte Versilberungsmethode zum Nachweis der AgNORs ("nucleolar organizing regions") Anwendung (s. Abb. 1.11, Methode s. S. 622). Wegen Artefaktanfälligkeit der Silberfärbung und zeitaufwendigen Auszählens der AgNORs ist die Methode für die Dienstleistung wenig geeignet.

DNA-Zytometrie

Wie im Kapitel "Grundlagen der Tumorbiologie" dargestellt (s. S. 22ff), sind DNA-Anomalien für Tumoren kennzeichnend (Tabelle 3.3). Sie nehmen im Laufe der Tumorentwicklung zu und erreichen schließlich ein messbares Ausmaß. Zur DNA-Messung stehen zwei Methoden zur Verfügung: Durchflusszytometrie an Aufschwemmungen von Tumorzellen (auch aus Feinnadelaspiraten) und statische Zytometrie an Feulgen-gefärbten Zellausstrichen (Methoden s. S. 621). Der Grad der DNA-Anomalie korreliert in der Regel mit dem Ausmaß der zytologisch nachweisbaren Kernatypie und mit dem Malignitätsgrad eines Tumors (s. unten). Bei geringer DNA-Anomalie zeigen die Tumorzellen nur geringe morphologische Abweichungen und erscheinen im DNA-Histogramm noch diploid wie die meisten nichtneoplastischen Zellen oder peridiploid; ihr DNA-Index beträgt DI = $1,0 \pm 0,1$. Die Zellen tetra- und oktoploider Tumoren (DI = $2,0 \pm 0,2$ oder **Tabelle 3.3** Definition der DNA-Histogramm-Typen(Ploidiegrade)

Ploidie	DNA-Index (DI)
Diploid/peridiploid	$1,0 \pm 0,1$
Tetraploid	2,0 ± 0,2
Oktaploid	4,0 ± 4,0
Polyploid	Diploide + tetraploide Stammlinie
Aneuploid	>1,1 <1,8
	>2,2 <3,6
	>4,4
Multiploid	Mehr als eine aneuploide Stammlinie

 $DI = 4,0 \pm 0,4)$ besitzen meist vergrößerte, aber ebenfalls noch wenig atypische Kerne. Tumoren mit ein oder mehreren "Stammlinien" außerhalb des di-, tetra- oder oktoploiden Bereichs sind "aneuploid" und weisen erhebliche Kernatypien auf (Abb. 3.11). Tumoren mit mehreren aneuploiden Stammlinien werden als "multiploid", solche mit einer diploiden und tetraploiden Stammlinie als polyploid bezeichnet [4, 5, 19].

DNA-Messungen werden durchgeführt, um lichtmikroskopische Befunde zu objektivieren (Qualitätssicherung), um eine sicherere Entscheidungsgrundlage für die Therapie zu haben und um eine Aussage über die Rezidivneigung eines Tumors treffen zu können. Ihr wichtigstes Anwendungsgebiet ist die urologische Zytologie. In der Ergusszytologie kann sie bei der Unterscheidung zwischen Tumorzellen und Mesothelien bzw. Makrophagen mit abnormen Kernen hilfreich sein [15].

Zytomorphometrie

Über den DNA-Gehalt der Zellkerne hinaus lassen sich morphometrisch am Papanicolaou-Präparat Kerndichte,

Automatisches Screening

Seit langem gehen zahlreiche Bemühungen dahin, das mikroskopische Durchmustern der Präparate zu automatisieren. Den Ansatz dazu bieten die besonderen färberischen Eigenschaften der Tumorzellkerne. Heute stehen Methoden zur Verfügung, die insbesondere in der gynäkologischen Zytologie (Früherkennung beim Zervixkarzinom) die konventionelle lichtmikroskopische Diagnostik unterstützen. Auf sie wird in den Kap. 7 und 28 eingegangen.

Kriterien zur Bestimmung des Tumortyps

Kernkriterien

Die für die Lebensvorgänge entscheidenden Leistungen einer Zelle werden vom Zytoplasma erbracht, aber von der DNA des Kerns gesteuert. Die funktionelle Differenzierung der Zelle ist daher nicht nur an der Ausbildung von Zytoplasmaorganellen, sondern unmittelbar auch am Zellkern abzulesen. Vesikuläre Kerne sind bei vielen Adenokarzinomen anzutreffen. Die verschiedenen Grade der Hyperchromasie lassen sich besonders gut an den Lungenkarzinomen demonstrieren (vgl. S. 287): Bei den Adenokarzinomen der Lunge erscheint der Kernhintergrund in der Papanicolaou-Färbung milchglasähnlich homogen grau, bei den Plattenepithel- und Urothelkarzinomen oft violett. So sind bestimmte Kernveränderungen für manche Tumoren sehr typisch (s. Tabelle 3.2, s. S. 36). Trotzdem spielen Kernkriterien im Vergleich zu den Zytoplasmakriterien für die Bestimmung des Tumortyps eine untergeordnete Rolle.



Abb. 3.11 DNA-Histogramm eines aneuploiden Tumors

Tabelle 3.4 Beispiele für die klinische Bedeutung prädiktiver Parameter (nach [10, 22])

Parameter	Tumor	Nachweismethode	Therapeutikum
Amplifikation c-erbB2 (17q11.2) = HER2	Mammakarzinom und andere	FISH [18, 20, 21]	Monoklonale Antikörper
EGFR-Gen-Mutation ("epidermal growth factor receptor", HER1)	Verschiedene Tumoren	PCR	MCFR-Inhibitoren
Östrogen-Rezeptor-Expression Progesteron-Rezeptor-Expression	Mammakarzinom	ICC [11]	Antiöstrogene, Aromatasehemmer
c-KIT-(CD117)-Expression	Gastrointestinale Stro- matumoren (GIST)	ICC	Tyrosinkinasehemmer (Imatinib)
VEGF ("vascular endothelial growth factor")	Verschiedene Tumoren	PCR	Monoklonale Antikörper
m p53-Gen	Lungenkarzinom	ICC	Taxane, Vincaloide
WT p53-Gen	Lungenkarzinom	ICC	Cisplatin
CD133-positive Tumorstammzellen	Verschiedene Tumoren	ICC	<i>Zytostatika</i> nicht bei autolog CD133-negativen (alle Tumorstammzellen CD133-negativ)

Zytoplasmakriterien

Am einfachsten ist der Tumortyp an den Produkten und Differenzierungen seines Zytoplasmas zu erkennen: das Plattenepithel an der Verhornung, das Adenokarzinom an der Schleimbildung, das Melanom am Melanin, das Leberzellkarzinom an Bilirubin, Rhabdomyosarkome an der Querstreifung usw. Dies alles sind Zeichen einer hohen Differenzierung des Zytoplasmas. Doch je schneller ein Tumor wächst und je weniger er Zeit hat, auszudifferenzieren, desto weniger vermag er die Zellprodukte zu bilden und desto schwieriger wird die Typisierung.

Immunzytochemische Kriterien

Während die Immunzytochemie in der Malignitätsdiagnose nur eine untergeordnete Rolle spielt, ist sie heute ein unverzichtbares Hilfsmittel, Tumoren richtig zu klassifizieren. Denn viele für die Tumorklassifizierung entscheidende Zytoplasmadifferenzierungen bleiben konventionell-lichtmikroskopisch verborgen. Sie lassen sich aber mittels Immunzytochemie aufdecken. Auf die Bedeutung der Immunzytochemie für die zytologische Differentialdiagnose der Tumoren wird im speziellen Teil dieses Buchs ausführlich eingegangen.

Molekularbiologische Kriterien

Der Nachweis von Translokalisationen, die bei manchen Tumoren regelmäßig vorhanden sind, erlaubt eine exakte Klassifizierung dieser Tumoren (Beispiele: Ewing-Sarkom, synoviales Sarkom und andere).

Bestimmung des Atypiegrades (Grading)

Das Ausmaß der zellulären Atypie korreliert bei den meisten Tumoren eng mit dem biologischen Verhalten. Je atypischer die Tumorzellen, desto rascher progredient ist die Tumorkrankheit und desto größer ist die Rezidivgefahr nach operativer Tumorentfernung. Der Atypiegrad resultiert aus dem Atypiegrad der Zellkerne, Nukleolenatypie, Abnahme der zytoplasmatischen Differenzierung, Grad des Kohäsivitätsverlustes und Mitoseindex. Für die Bestimmung des Malignitätsgrades wurden verschiedene Systeme entwickelt, meist im Hinblick auf Tumoren eines bestimmten Organs, da es angesichts der morphologischen Vielfalt der Tumoren ein auf alle malignen Tumoren anwendbares Gradingsystem nicht geben kann. Am bekanntesten ist das histologische Malignitätsgrading für Mammakarzinome nach Bloom sowie nach Richardson und Elston ("BRE"-Grading) [9], das sich auch auf zytologische Präparate übertragen lässt [7]. Das Kerngrading am zytologischen Ausstrich, in das das Ausmaß der Größenvariabilität der Kerne, der Grad der Kernpolymorphie und der Grad der Chromatinatypie eingehen, korreliert bei den meisten Tumoren bereits ausreichend gut mit dem biologischen Verhalten.

Kapitel 3

Zytologische Tumorkriterien

Prognostische Parameter

Darunter sind diejenigen Merkmale einer Tumorzelle zu verstehen, die etwas über die Wachstumsgeschwindigkeit eines Tumors und damit über die Überlebenschancen des Tumorpatienten aussagen. Zu nennen sind in erster Linie der bereits lichtmikroskopisch beurteilbare Grad der Dedifferenzierung im Vergleich zum Ausgangsgewebe und die Wachstumsgeschwindigkeit eines Tumors bzw. seiner Zellen, gemessen am Anteil teilungsbereiter Zellen. Hinzu kommen teils tumortypspezifische molekularbiologisch nachweisbare genetische Veränderungen.

Prädiktive Parameter

Prädiktive Parameter (s. Tabelle 3.3) sind in zweierlei Hinsicht wichtig: Sie ermöglichen einerseits eine gezielte medikamentöse Therapie und helfen andererseits, eine unnütze, den Patienten unnötig belastende Therapie zu vermeiden. Aus klinischer Sicht sind sie wichtiger als die prognostischen Parameter. Ziel der sog. "targeted therapy" (zielgerichteten Therapie) ist es, mit speziellen Mikromolekülen, Antikörpern oder Antisense-Oligomolekülen bestimmte Gene und Genprodukte funktionell unwirksam zu machen, die Tumorzellen der Apoptose zuzuführen oder zumindest in ihrem Wachstum zu bremsen (s. Tabelle 3.3). Viele prädiktive Parameter sind unabhängig von ihrer Bedeutung für die Therapie auch prognostisch wichtig. So gilt die Untersuchung mittels FISH als die beste Methode für den Nachweis einer Her-2/neu-Amplifikation, die als prognostischer und vor allem als prädiktiver Parameter große Bedeutung beim Mammakarzinom hat.

Literatur

- Aiello A, Delia D, Giardini R et al. (1997) PCR analysis of IgH and BCL2 gene rearrangement in the diagnosis of follicular lymphoma in lymph node fine-needle aspiration. A critical appraisal. Diagn Mol Pathol 6: 154–160
- Bullerdiek J, Rogalla P (1999) Molekulare Zytologie. Ver Dtsch Ges Zyt 21. Tagung: 16–24
- Cajulis RS, Haines GK 3rd, Frias-Hidvegi D et al. (1995) Cytology, flow cytometry, image analysis, and interphase cytogenetics by fluorescence in situ hybridization in the diagnosis of transitional cell carcinoma in bladder washes: a comparative study. Diagn Cytopathol 13: 214–223; discussion 224
- Cibas ES (1995) Applications of flow cytometric DNA analysis to diagnostic cytology. Diagn Cytopathol 13: 166–171

- Cohen C (1996) Image cytometric analysis in pathology. Hum Pathol 27: 482–493
- Cremer C, Munkel C, Granzow M et al. (1996) Nuclear architecture and the induction of chromosomal aberrations. Mutat Res 366: 97–116
- Dalquen P, Baschiera B, Chaffard R et al. (1997) MIB-1 (Ki-67) immunostaining of breast cancer cells in cytologic smears. Acta Cytol 41: 229–237
- 8. Dey P (2005) Chromatin pattern alteration in malignant cells: an enigma. Diagn Cytopathol 32: 25–30
- Elston CW, Ellis IO (1991) Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. Histopathology 19: 403–410
- Fischer JR, Lahm H (2004) Validation of molecular and immunological factors with predictive importance in lung cancer. Lung Cancer 45 [Suppl 2]: S151–161
- Holst F, Stahl PR, Ruiz C et al. (2007) Estrogen receptor alpha (ESR1) gene amplification is frequent in breast cancer. Nat Genet 39: 655–660
- Jeffers MD, McCorriston J, Farquharson MA et al. (1997) Analysis of clonality in cytologic material using the polymerase chain reaction (PCR). Cytopathology 8: 114–121
- Johnson TM, Kuffel DG, Dewald GW (1996) Detection of hyperdiploid malignant cells in pleural effusions with chromosome-specific probes and fluorescence in situ hybridization. Mayo Clin Proc 71: 643–648
- Lovchik J, Lane MA, Clark DP (1997) Polymerase chain reaction-based detection of B-cell clonality in the fine needle aspiration biopsy of a thyroid mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. Hum Pathol 28: 989–992
- Motherby H, Nadjari B, Remmerbach T et al. (1998) Static DNA cytometry as a diagnostic aid in effusion cytology: II. DNA aneuploidy for identification of neoplastic cells in equivocal effusions. Anal Quant Cytol Histol 20: 162–168
- Motherby H, Ross B, Kube M et al. (1998) Pleural carcinosis confirmed by adjuvant cytological methods: a case report. Diagn Cytopathol 19: 370–374
- 17. Oberholzer M, Ettlin R, Christen H et al. (1991) The significance of morphometric methods in cytologic diagnostics: differentiation between mesothelial cells, mesothelioma cells and metastatic adenocarcinoma cells in pleural effusions with special emphasis on chromatin texture. Anal Cell Pathol 3: 25–42
- Press MF, Sauter G, Bernstein L et al. (2005) Diagnostic evaluation of HER-2 as a molecular target: an assessment of accuracy and reproducibility of laboratory testing in large, prospective, randomized clinical trials. Clin Cancer Res 11: 6598–6607
- Riley RS, Mahin EL, Ross W (1993) Clinical application of flow cytometry. Igaku-Shoin, New York Tokyo, pp 251–322
- Sauter G, Feichter G, Torhorst J et al. (1996) Fluorescence in situ hybridization for detecting erbB-2 amplification in breast tumor fine needle aspiration biopsies. Acta Cytol 40: 164–173

Literatur

- Sauter G, Lee J, Bartlett JM et al. (2009) Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biologic and methodologic considerations. J Clin Oncol 27: 1323– 1333
- 22. Seufferlein T, Ahn J, Krndija D et al. (2009) Tumor biology and cancer therapy – an evolving relationship. Cell Commun Signal 7: 19
- Vianello F, Tison T, Radossi P et al. (1998) Detection of B-cell monoclonality in fine needle aspiration by PCR analysis. Leuk Lymphoma 29: 179–185
- 24. Visser AE, Eils R, Jauch A et al. (1998) Spatial distributions of early and late replicating chromatin in interphase chromosome territories. Exp Cell Res 243: 398–407
- 25. Zink D, Bornfleth H, Visser A et al. (1999) Organization of early and late replicating DNA in human chromosome territories. Exp Cell Res 247: 176–188
- 26. Zink D, Cremer T, Saffrich R et al. (1998) Structure and dynamics of human interphase chromosome territories in vivo. Hum Genet 102: 241–251

Kapitel 4

Häufig vorkommende Zellen und Zellprodukte

4

Inhalt

Einleitung	48
Myelogene Zellen	48
Erythrozyten	48
Granulozyten	48
Monozyten/Makrophagen	49
Lymphatische Zellen	52
Epitheliale Zellen	52
Plattenepithelien	52
Zylinderzellen	52
Flimmerepithelien	52
Neuroendokrine Zellen	53
Mesenchymale Zellen	53
Fibroblasten und Fibrozyten	53
Endothelien	54
Muskelzellen	54

Fettgewebszellen (Adipozyten)	54
Zellprodukte	55
Fibrin	55
Schleim	55
Psammomkörper	55
Liesegang-Ringe	55
Kollagenfasern	55
Knorpel	56
Lipofuszin	56
Amyloid	56
Blutabbauprodukte	57
Exogene Partikel	57
Pollen und andere Pflanzenzellen	57
Puderkristalle	57
Literatur	58

Einleitung

Im Folgenden werden zusammenfassend diejenigen Zellen und Zellprodukte besprochen, die in allen oder mehreren Organen vorkommen. Am weitesten verbreitet sind die mit dem Blut transportierten Zellen und die Zellen des Stützgewebes. Darüber hinaus kommen einige Deckzellen wie Plattenepithelien, Zylinderzellen und Flimmerepithelien in mehreren Organsystemen vor und sind deshalb in fast jeder Art von zytologischem Material einmal anzutreffen. Die diagnostische Bedeutung aller dieser fast ubiquitären Zellen ist meist gering. Sie sind aber in vielen zytologischen Proben ein wichtiger Vergleichsmaßstab für die Beurteilung des Kernchromatins und für die ungefähre Größenbestimmung pathologischer Zellen.



Abb. 4.1 Neutrophile und eosinophile Granulozyten in PLE; in der PapF Unterscheidung meist nur an der unterschiedlichen Kernsegmentierung erkennbar (840×)

Myelogene Zellen

Fast jede zytologische Probe enthält wenigstens einige Erythrozyten, Granulozyten und Histiozyten oder Makrophagen. Manchmal füllen die aus dem Knochenmark stammenden Blutzellen den Präparathintergrund und überdecken die diagnostisch wichtigen Zellen.

Erythrozyten

Die roten Blutkörperchen sind ca. 7 μ m große, zentral leicht eingedellte, kernlose Scheibchen. Sie erscheinen im Querschnitt hantelförmig und bei Aufsicht zentral aufgehellt. Wegen ihrer basischen Membranproteine sind sie azidophil. Im Papanicolaou-Präparat sind sie leuchtend rot bis orange oder grünlich, in MGG leuchtend rot gefärbt. Das Auftreten von kernhaltigen Erythrozyten außerhalb des Knochenmarks ist immer pathologisch. Wenn die Erythrozyten aus einer Tage zurückliegenden Blutung stammen, geben sie sich als Wolken oder Schlieren von zyanophilem Detritus zu erkennen. Liegt die Blutung länger als 3–5 Tage zurück, finden sich die ersten hämosiderinspeichernden Makrophagen.

Granulozyten

Neutrophile Granulozyten: Ihr Vorhandensein kann, muss aber nicht Ausdruck einer pathologischen Entzündung sein. Sputum und zervikales Sekret des Uterus enthalten physiologischerweise eine größere Zahl von Neutrophilen. In diesen Proben sind nur die Veränderung des Granulozytengehalts und das Zusammentreffen mit anderen Entzündungszeichen als pathologisch zu werten. Zytolo-



Abb. 4.2 Eosinophile Granulozyten in PLE; in MGG stellen sich die eosinophilen Granula dar (840×)

gisch sind die 10–12 µm großen Granulozyten an ihrem plumpen wurst- bis stabförmigen oder an dem mehrfach segmentierten Kern zu erkennen (Abb. 4.1 und 4.2). Die hauptsächlich Lysosomen entsprechenden Zytoplasmagranula sind in der Papanicolaou-Färbung (PapF) blass zyanophil. Wenn wie im Eiter große Massen von Granulozyten zerfallen, sind die Granula als dichter, feinkörniger, zyanophiler Detritus im Ausstrichhintergrund zu sehen und werden leicht mit kokkenförmigen Bakterien verwechselt. Bakterien sind aber im Unterschied zu den Granula der Neutrophilen deutlich basophil.

Eosinophile Granulozyten unterscheiden sich von den gleich großen neutrophilen durch plumpe Granula, die aus verschiedenen Proteinen bestehen (s. Abb. 4.1 und 4.2). Hauptsächliche Komponenten dieser Proteine sind das "major basic protein" (MBP) mit einem Molekulargewicht (MG) von 9300 und das eosinophile kationische Protein (ECP = "eosinophilic catatonic protein") mit einem MG von 21.000. Das MBP dient u. a. der Parasitenabwehr und schädigt verschiedene Wurmlarven. Zerfallen eosinophile Granulozyten, bilden sich aus MBP die *Charcot-Leyden-Kristalle*. Das ECP bindet und inaktiviert Heparin.

Im Unterschied zu den Neutrophilen haben die Kerne der Eosinophilen nur zwei Segmente. Die Kernform ist ein besseres Unterscheidungsmerkmal als die eosinophilen Zytoplasmagranula. Diese sind in zytologischem Material mit Ausnahme von Urinsedimenten gut mittels MGG darstellbar. In der PapF färben sich die Granula dagegen nur manchmal leuchtend rot, gelegentlich giftgrün (besonders im Sputum), meist aber gar nicht an. Da die Zellen nach Feuchtfixation ihre Kugelform bewahren und sich nicht wie bei Trockenfixation flach auf dem Objektträger ausbreiten, können sich in nach Papanicolaou gefärbten Präparaten die beiden Kernsegmente je nach Aufsicht auf den Kern ineinander projizieren (s. Abb. 4.1). Die Eosinophilen erscheinen dann einkernig und können bei fehlender Zytoplasmaanfärbung wie Lymphozyten aussehen. Im Unterschied zu den Lymphozyten erscheinen die Kerne aber durch die Projektionsverhältnisse kleiner, dichter und fast strukturlos.

Basophile Granulozyten/Mastzellen: Die ebenfalls im Knochenmark gebildeten basophilen Granulozyten und Mastzellen sind auf parakrine Signalübermittlung spezialisiert (vgl. S. 17). Sie sind die Zellen der immunologischen Sofortreaktion (Coombs-Typ I). Alles ist auf die Möglichkeit einer raschen Reaktion hin angelegt. Das sie aktivierende Immunglobulin IgE hält die Fc-Rezeptoren besetzt, noch bevor eine Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat. Bindet sich ein Antigen an das IgE, werden die Rezeptoren aktiviert und sofort die in sekretorischen Vesikeln gespeicherten Mediatoren durch *Exo*zytose (Ausschleusung aus der Zelle) freigesetzt.

Der wichtigste Mediator ist *Histamin*. Es macht die Blutkapillaren durchlässig und erleichtert damit den Zutritt von Serumantikörpern, Komplement und Phagozyten zu der Stelle des Gewebsschadens. Andere Mediatoren wirken *chemotaktisch* und locken u. a. eosinophile Granulozyten an, die wiederum Enzyme enthalten, die im Sinne einer Gegenregulation Histamin inaktivieren. Daher sind meist auch vermehrt Mastzellen anzutreffen, wo Eosinophile sind und umgekehrt.

Die Granula der Mastzellen sind lysosomale Gebilde, in denen die Mediatoren gespeichert sind. Sie sind "metachromatisch" und stellen sich nur in Toluidinblau und MGG dar, nicht aber in der PapF. In MGG erscheinen sie dunkel violett (Abb. 4.3).

Monozyten/Makrophagen

Die Fresszellen sind befähigt, sich amöbenartig fortzubewegen. Sie nehmen Fremdpartikel auf, indem sie sie umfließen und durch Abschnürungen der Zellmembran in kleinen Vesikeln (Lysosomen) verpacken und in ihrem Zytoplasma speichern. Ihre Herkunft aus dem Knochenmark belegt folgende Beobachtung (Abb. 4.4 und 4.5): Wird Knochenmark von einem männlichen Spender (Träger eines X- und eines Y-Chromosoms) auf einen weiblichen Empfänger (Träger von zwei X-Chromosomen) transplantiert, dessen eigenes Knochenmark durch Ganzkörperbestrahlung zerstört wurde, so erscheinen bei dem Empfänger ca. 100 Tage nach Transplantation in den Lungenalveolen nur noch Makrophagen mit einem Y-Chromosom (s. Abb. 4.4) [6].

Steigt der Bedarf an Makrophagen in der Peripherie zum Beispiel infolge eines Infekts plötzlich an, stimulieren die an der Immunreaktion beteiligten *T-Lymphozyten* durch Bildung von Interleukin 3 und *aktivierte Makrophagen* durch Sekretion von CSF ("colony-stimulating factor") die Makrophagenproduktion des Knochenmarks. Die physiologische Makrophagenproduktion ist enorm:



Abb. 4.3 Basophile Granulozyten/Mastzellen, daneben Lymphozyten und Makrophagen in bronchoalveolärer Lavage eines Patienten mit Vogelzüchterlunge (MGG, 525×)



Abb. 4.4 Knochenmarkstransplantation von männlichem Spender auf weiblichen Empfänger beweist, dass alle Makrophagen von Vorläuferzellen des Knochenmarks abstammen: Etwa 100 Tage nach KMT tragen alle Makrophagen des Empfängers ein Y-Chromosom (nach [6]). Nadir = Wendepunkt = tiefster Wert an neutrophilen Granulozyten unter myelosuppressiver zytotoxischer Chemotherapie



Ausscheidung über Tracheobronchialsystem

Abb. 4.5 Makrophagenentwicklung. Im Knochenmark gebildete Monozyten gelangen über die Blutbahn ins Interstitium der Organe (hier Lunge). Dort bei Bedarf Aktivierung zu Makrophagen. Nach Phagozytose Ablagerung im Gewebe, in der Lunge auch Ausscheidung über Alveolen

In den Lungen werden täglich 7–10 Milliarden Makrophagen über die Alveolen in das Tracheobronchialsystem ausgeschieden. Mit ähnlich hoher Makrophagenausscheidung ist im Magen-Darm-Trakt zu rechnen.

Makrophagen sind funktionell äußerst anpassungsfähig. Sie durchlaufen verschiedene Funktions- und Reifungszustände. Zunächst wandern sie als *Monozyten* auf dem Blutweg aus dem Knochenmark in die Organe ein und bleiben hier als *Histiozyten* im perivaskulären Bindegewebe als rasch mobilisierbare Makrophagenreserve liegen. Auch die für die Antigenerkennung wichtigen *dendritischen Retikulumzellen* und *Langerhans-Zellen*, Abb. 4.6), die von Kupffer-Sternzellen der Leber und die bei granulomatösen Erkrankungen auftretenden *Epitheloidzellen* gehören zum Makrophagensystem. Lichtmikroskopisch lassen sich folgende Funktionstypen der Makrophagen ohne weiteres unterscheiden.

Monozyten: Die Blutmonozyten sind im Allgemeinen wenig größer als neutrophile Granulozyten. Sie besitzen einen meist gebuchteten Kern und einen schmalen blass zyanophilen Zytoplasmasaum. Der Nukleolus ist kaum sichtbar (Abb. 4.7).

Histiozyten stehen morphologisch zwischen Monozyten und reifen Makrophagen. Das Zytoplasma ist meist noch nicht vakuolisiert. Die Kerne sind etwas größer als

Häufig vorkommende Zellen und Zellprodukte



Abb. 4.6 Langerhans-Zelle mit charakteristisch tief gekerbtem Kern (EM, 4100×2,5)



Abb. 4.7 Monozyten/unreife Makrophagen in bronchoalveolärer Lavage (PapF, 525×)

Monozytenkerne, aktiviert und können sehr unterschiedlich geformt sein. Ob sich die Histiozyten noch teilen können, ist umstritten.

Aktivierte Makrophagen: Junge Makrophagen ähneln in Größe und Form den Blutmonozyten. Bei hochakuten Entzündungen und überstürzter Ausschwemmung aus dem Knochenmark können sie sich vereinzelt noch in Mitose befinden. Die Aktivierung eines Makrophagen ist an seiner phagozytotischen Aktivität ablesbar. Sie äußert sich in einer Größenzunahme sowie Vakuolen und Pigmenteinschlüssen im Zytoplasma. Die Kerne liegen zentral oder exzentrisch im Zytoplasma. Sie sind nun bläschenförmig, gröber strukturiert und enthalten einen feinen eosinophilen Nukleolus. Aktivierte Makrophagen bilden manchmal kleine Pseudoverbände und können dadurch Anlass zur Verwechslung mit Karzinomzellen geben. Nehmen Makrophagen Fettstoffe auf, werden sie

Myelogene Zellen







Abb. 4.9 Frische Erythrophagie und Hämosiderinspeicherung eines Makrophagen (FNA Schilddrüse, PapF, 840×)



Abb. 4.10 Staubfreie Alveolarmakrophagen eines Nichtrauchers in bronchoalveolärer Lavage (PapF, 525×)



Abb. 4.11 "Rauchermakrophagen" = rußbeladene Makrophagen in bronchoalveolärer Lavage (PapF, 525×)

zu *Schaumzellen* (Abb. 4.8); Beispiele sind Zellen bei der Gaucher-Speicherkrankheit und bei Infektion mit dem Mycobacterium avium intrazellulare [4]. Nehmen Makrophagen Erythrozyten auf, bauen sie Hämoglobin zu Hämosiderin ab, das in der PapF gelblich-braun (Abb. 4.9), in MGG schwärzlich erscheint. Haben sie Staub (Ruß) phagozytiert, werden sie als *Staubzellen* (Abb. 4.10 und 4.11) bezeichnet.

Epitheloidzellen: Unter dem Einfluss von schwer resorbierbaren Antigen-Antikörper-Komplexen bilden sich histiozytäre Zellen, die ein reich entwickeltes endoplasmatisches Retikulum besitzen. Ihr Zytoplasma erscheint breit, blass eosinophil (PapF: zyanophil), abgerundet oder oval. Ihre Kerne sind typischerweise schuhsohlenförmig (Abb. 4.12).

Riesenzellen: Makrophagen mit zwei bis fünf Kernen sind keine Seltenheit. Je nach Art des Materials, das die Makrophagen aufnehmen, bilden sich jedoch Riesenzellen mit bis zu 50 oder mehr Kernen. Riesenzellbildung ist besonders häufig bei Resorption von Fremdmaterial (Fremdkörperriesenzellen) und bei granulomatöser Entzündung durch Synzytiumbildung der Epitheloidzellen



Abb. 4.12 Epitheloidzellen in granulomartiger Anordnung (PapF, 525×)



Abb. 4.13 Riesenzelle vom Langhans-Typ (PapF, 210×)

(*Langhans-Riesenzelle* bei Tuberkulose und Sarkoidose; Abb. 4.13).

Immunzytochemie. Generell sind Makrophagen und ihre Varianten Vimentin-, MAK387- und CD68-positiv. In Ergüssen können Makrophagen auch CD45-positiv sein. Dendritische Retikulumzellen (Langerhans-Zellen) sind S100- und CD1a-positiv (vgl. Kap. 24, Tabelle 24.1). Immunzytochemisch und histochemisch lassen sich darüber hinaus noch weitere Subtypen unterscheiden. Besonders zu beachten ist bei der Interpretation von immunzytochemischen Befunden, dass Makrophagen durch Aufnahme von Bestandteilen anderer (z. B. epithelialer) Zellen manchmal aberrante Reaktionen aufweisen.

Lymphatische Zellen

In fast allen zytologischen Proben sind einige Lymphozyten nachweisbar. Ihre Bildungsstätte sind hauptsächlich Thymus und Lymphknoten. Außerhalb der Lymphknoten trifft man meist auf kleine Lymphozyten, größere transformierte Lymphozyten aus Keimzentren von Lymphfollikeln und auf Plasmazellen. Auf die verschiedenen Lymphozytensubpopulationen wird im Lymphknotenkapitel (Kap. 24) näher eingegangen.

Epitheliale Zellen

Plattenepithelien

Das in Haut (Epidermis), Mundschleimhaut, Oesophagus, Stimmlippen sowie im Anal- und Genitalbereich vorkommende Plattenepithel ist im Wesentlichen überall gleich aufgebaut. Es besteht aus mehreren Schichten (Stratum basale, parabasale, spinosum, granulosum und corneum). Nur die Zellen des Stratum basale, der Keimzellschicht, haben unmittelbaren Kontakt mit der Basalmembran. Sie sind die einzigen teilungsfähigen Zellen des Plattenepithels. Von den beiden aus der Zellteilung hervorgehenden Tochterzellen differenziert sich nur eine weiter und steigt während des Differenzierungsvorgangs Schicht um Schicht zur Oberfläche, wo sie schließlich als reifer Keratozyt abgestoßen wird. Während ihrer Differenzierung verhornt die Zelle allmählich und verliert ihren Kern. Die Verhornung ist in der Epidermis am ausgeprägtesten.

Zytologie. Je nach Ausreifung unterscheidet man mehrere Formen von Plattenepithelien (Abbildungen s. Kap. 7).

Zylinderzellen

In vielen Drüsen kommen hochprismatische Epithelien vor, insbesondere in den Gängen der Speicheldrüsen und des Pankreas, im Genitaltrakt und im Magen-Darm-Trakt. Sie sind in der Regel sekretorisch aktiv. In Teilen des Magen-Darm-Trakts obliegt ihnen die Resorption der Nährstoffe aus dem Chymus. Diese resorptiv tätigen Zylinderepithelien besitzen an ihrer Oberfläche bis zu Tausende von *Mikrovilli*, unbewegliche fingerförmige Ausstülpungen der Zellmembran, die der Vergrößerung der Zelloberfläche dienen. In den Mikrovilli befinden sich gelegentlich Mikrofilamente, an ihrer Oberfläche Enzyme für die Hydrolyse und den aktiven Transport.

Zytologie. Zylinderzellen sind ausgesprochen polar gebaut (s. Abb. 7.6 und 7.7). Der polare Bau stellt sich besonders eindrücklich dar, wenn man flach ausgebreitete Zylinderzellverbände am Mikroskop betrachtet und dabei mit der Mikrometerschraube verschieden Ebenen einstellt. Die Kerne liegen gewöhnlich in der Nähe der Zellbasis. Der apikale Teil der Zellen ist besonders in den schleimbildenden Zylinderzellen durch Sekretbildung aufgehellt. Bei starker Schleimproduktion bilden sich *Becherzellen* (Abb. 4.14). Sie sind bauchig aufgetrieben. Je nach Art des gebildeten Sekrets ist das Zytoplasma in PapF transparent (z. B. Duodenum), gelblich (z. B. Magen) oder rosa (Bronchialepithel).

Flimmerepithelien

Die an ihrer Oberfläche Zilien tragenden Zellen sind spezialisierte Zylinderzellen. Sie kommen hauptsächlich im Respirationstrakt und in der Tuba ovarii vor. Im Respirationstrakt befördern sie den von den Bronchialdrüsen gebildeten Schleim in Richtung Mundhöhle, in der Tube transportieren sie das Ei vom Ovar zur Nidation in das Cavum uteri.

Mesenchymale Zellen



Abb. 4.14 Schleimbildende Zellen, hier Becherzellen des Bronchialepithels. Zellleib durch rötlich gefärbte Schleimgranula aufgetrieben; Zytoplasma der Flimmerzellen zyanophil (PapF, 525×)



Abb. 4.15 Flimmerzellen des Bronchialepithels mit deutlich er-

kennbarer Schlussleiste (PapF, 840×)

Abb. 4.16 Fibroblasten und Fibrozyten (PapF, 525×)

Vesikeln, den elektronenoptisch darstellbaren neuroendokrinen Granula (s. Abb. 13.4), speichern.

Zytologie. Neuroendokrine Granula sind nur *immunzytochemisch* darstellbar. Sie exprimieren insbesondere Synaptophysin und Chromogranin A.

Mesenchymale Zellen

Fibroblasten und Fibrozyten

Auf die Zellen des kollagenen Bindegewebes trifft man in vielen Feinnadelaspiraten. Die größeren Fibroblasten finden sich in frischem entzündlichem Organisationsgewebe, die kleineren Fibrozyten hauptsächlich in dem daraus hervorgehenden Narbengewebe.

Zytologie. Es handelt sich um längliche Zellen mit spindeligen Kernen (Abb. 4.16). Die Kerne der *Fibroblasten* sind auffallend strukturarm und enthalten oft einen oder

Zytologie. Zilien sind evolutionsgeschichtlich sehr alte Zellorganellen. Sie sind etwa doppelt so dick und 5-mal so lang wie Mikrovilli. Die haarfeinen, ca. 0,25 µm dicken Gebilde bedecken wie ein dichter Rasen die Zelloberfläche. Sie sind mit einem Ziliosom im Zytoplasma verankert. Die unmittelbar unter der Oberfläche der Zelle gelegenen Ziliosomen bilden lichtmikroskopisch scheinbar eine Platte oder Schlussleiste (s. Abb. 1.1, Abb. 4.15). Das für den Bewegungsablauf verantwortliche Axionem der Zilien setzt sich aus einem System von 9 äußeren Paaren und einem zentralen Paar von Mikrotubuli zusammen (s. Abb. 13.22). Das zentrale Tubuluspaar ist von einer Membran umgeben. Von jedem äußeren Tubuluspaar weist eine radiale Speiche auf das Zilienzentrum. Die äußeren Tubuluspaare sind untereinander durch Nexine verbunden. Das eigentliche kontraktile Element sind die inneren und äußeren Dyneinarme. Alle Bewegungen sind fein aufeinander abgestimmt. So entsteht ein peitschenhiebähnlicher Bewegungsablauf. Die Schlagrichtung liegt senkrecht zur Verbindungslinie zwischen den Zentren der beiden zentralen Tubuli [1, 3, 8, 9]. Ultrastrukturell sind auch die Geißeln der Spermien aus 9+2 Tubuluspaaren aufgebaut. Die Geißeln dienen dort aber im Unterschied zu Flimmerhaaren der aktiven Fortbewegung. Angeborene Störungen des Ziliaraufbaus betreffen auch die Geißeln der Spermien und führen deshalb zu komplexen Krankheitsbildern mit Infektanfälligkeit und Fertilitätsstörung.

Neuroendokrine Zellen

Viele Epithelien beherbergen einzelne neuroendokrine Zellen. Sie spielen möglicherweise bei der Wachstumsregulierung des Epithels, bei der Regulierung der Epitheldurchlässigkeit und bei der Regulierung des Tonus der glatten Muskulatur der Schleimhäute eine Rolle. Sie produzieren verschiedene Peptidhormone, die sie in kleinen



Abb. 4.17 Glatte Muskelfasern aus der Wand einer kleinen Arterie (PapF, 840×)



Abb. 4.18 Quergestreifte Muskelfasern. Streifung dargestellt bei geschlossener Kondesorblende und starker Beleuchtung (PapF, 525×)

mehrere zarte eosinophile Nukleolen. Das Zytoplasma ist zyanophil und verliert sich in der von ihnen produzierten kollagenen Matrix. *Fibrozyten* sehen wie geschrumpfte Fibroblasten aus. Sie sind ebenfalls spindelig und besitzen kleine spindelige bis kommaförmige, inaktiv wirkende Kerne. *Immunzytochemisch* sind die Bindegewebszellen Vimentin-positiv, reagieren gelegentlich aber auch mit Endothelmarkern (s. unten).



Abb. 4.19 Reife Fettgewebszellen. (PapF, 210×)

nophile Schollen mit einem Durchmesser von $50-100 \,\mu m$ (Abb. 4.18). In FNP der Schilddrüse werden sie leicht mit Kolloid verwechselt. Durch Schließen der Kondensorblende wird die Querstreifung sichtbar. Die unscheinbaren rundlichen bis spindeligen Kerne liegen am Rand der Fasern.

Fettgewebszellen (Adipozyten)

Fettgewebszellen entwickeln sich aus fibroblastenähnlichen Vorläuferzellen. Junge und embryonale Adipozyten enthalten mehrere Fetttropfen, was ihnen ein maulbeerförmiges Aussehen verleiht. Reife Fettzellen enthalten einen großen Fetttropfen, der den Kern an den Zellrand drängt und zu einer schmalen Sichel zusammenpresst. Durch Alkoholfixation wird das Fett herausgelöst, so dass in der PapF nur eine große Vakuole zurückbleibt. Die Fettzellen sitzen einem zarten, in PapF grünen Fasergerüst oder Kapillarrippen auf und bilden dichte traubenartige Aggregate (Abb. 4.19).

Endothelien

In Feinnadelaspiraten und Abstrichen von Frischgewebe kommen gelegentlich Endothelien vor, die sich hinsichtlich ihrer Kerne nicht von Fibroblasten unterscheiden. Sie liegen entlang einer feinen, manchmal verzweigten Achse von Kollagenfasern, denen dann oft Tumor- oder Epithelzellen aufsitzen. *Immunzytochemisch* sind Endothelien positiv für Vimentin, CD34 (Q-Bend), CD31, Faktor VIII und SMA ("smooth muscle actin").

Muskelzellen

Die Zellen der glatten Muskulatur gelangen häufig bei Feinnadelpunktionen aus den Wänden kleiner Blutgefäße oder bei Bürstenbiopsien des Magen-Darm-Trakts bzw. des Bronchialsystems in zytologische Präparate. Sie bilden Bündel von elongierten spindeligen Zellen mit einem zyanophilen, längs-fibrillären Zytoplasma und schmalen ovalen bis spindelförmigen Kernen (s. Abb. 4.17). Nukleolen sind meist nicht zu sehen. *Immunzytochemisch* sind glatte Muskelzellen positiv für Vimentin, SMA und Desmin, in der Regel aber CD34-negativ.

Quergestreifte Muskelzellen finden sich in den verschiedensten Feinnadelpunktaten, besonders in FNP aus der Halsregion. Sie erscheinen in PapF als leuchtend eosi-