

Aus dem Institut für Anatomie  
Abteilung für Mikroskopische Anatomie  
Ehemaliger Direktor: Prof. Dr. med. A. F. Holstein  
Des Universitätsklinikum Hamburg - Eppendorf

# **Über das Vorkommen von Lymphozyten im Hoden des Menschen**

Dissertation  
Zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg  
vorgelegt von

**Annette Kagel**  
aus Greifswald

Hamburg  
Juli 2002

Angenommen vom Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am:

16.09.2002

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin  
der Universität Hamburg

Dekan: Prof.Dr.med. Christoph Wagener  
Prodekanin Forschung: Prof. Dr. rer. nat. Dr. h. c. Ulrike Beisiegel

## **Inhaltsverzeichnis**

	Seite
<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>Material und Methoden .....</b>	<b>3</b>
Hodenbiopsien für Semidünnschnitt-Histologie.....	3
Hodenbiopsien zur Fertilitätsdiagnostik .....	4
Hodenbiopsien zur Tumordiagnostik .....	5
Hodengewebe von Patienten mit Prostata-Carcinom .....	9
Paraffinschnitt-Histologie und Immunhistochemie .....	11
Hodengewebsproben von Autopsien .....	11
Zeichenerklärungen .....	15
Materialaufarbeitungsmethoden .....	18
Beschichtung von Objektträgern, Paraffinschnittechnik und Färbungen .....	18
Verwendete Antikörper und Methodik der Immunhistochemie ...	20
Bestimmung der Zahl der Lymphozyten am Gewebsschnitt .....	22
<b>Befunde .....</b>	<b>23</b>
Semidünnschnitt-Histologie von Hodenbiopsien im Rahmen einer Fertilitätsdiagnostik .....	23
Semidünnschnitt-Histologie von Hodenbiopsien im Rahmen einer Tumordiagnostik .....	30
Semidünnschnitt-Histologie von Hodengewebsproben bei Patienten mit Prostata-Carcinom .....	33
Immunhistochemie an Hodengewebsproben von Autopsien .....	34
<b>Diskussion .....</b>	<b>44</b>
<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>50</b>
<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>52</b>
<b>Danksagung .....</b>	<b>58</b>
<b>Lebenslauf .....</b>	<b>59</b>
<b>Erklärung .....</b>	<b>60</b>

## **Einleitung**

Bei der histologischen Untersuchung von Hodenbiopsien im Rahmen einer Fertilitätsdiagnostik oder einer Tumordiagnostik ist die Bewertung des Vorkommens von Lymphozyten im Hodenparenchym strittig. Der Hoden gilt als immunprivilegiertes Organ des menschlichen Körpers (Barker & Billingham 1977, Head & Billingham 1985). Dies zeigt sich darin, daß Transplantate ein verlängertes Überleben im Hodengewebe aufweisen – ein Phänomen, welches durch die fehlende Abwehrreaktion und die Abwesenheit von Lymphozyten im Intertubulären Raum erklärt wird (Nicholas & Scothorne 1969, Whitmore & Gittes 1977). Das Zusammenspiel aktiver Prozesse lokaler Gewebefaktoren ist vermutlich für die Aufrechterhaltung dieses immunologischen Privilegs verantwortlich (Head & Billingham 1985, Streilein 1993, Pollanen et al. 1988, 1990, Sainio-Pollanen et al. 1997, Maddocks et al. 1990). Sie nehmen Einfluß auf die Eigenschaften des Endothels der Kapillaren des Hodens, wodurch der Austritt von Lymphozyten aus der Blutbahn in den intertubulären Raum verhindert wird (Setchell et al. 1990, Holash et al. 1993). Den Eintritt von Lymphozyten in das Keimepithel unterbindet die Sertolizell-Barriere (Fawcett 1970, Dym & Fawcett 1973).

Werden nun jedoch bei der histologischen Diagnostik von Hodenbiopsien Lymphozyten gefunden, stellt sich die Frage, welche Bedeutung sie haben. Die Unsicherheit der Bewertung geht soweit, daß Schütte et al. (1981, 1988) das Auftreten von Lymphozyten mit dem Verdacht auf Vorliegen eines frühen Hodentumors in Zusammenhang brachten. Dieser Verdacht ist nicht abwegig, da bei frühen Hodentumoren (CIS, TIN) immer eine ausgedehnte lymphatische Begleitreaktion zu finden ist (Lauke 1988).

Über die Existenz von Lymphozyten im Hodenparenchym wurde meistens als Nebenbefund und zudem kontrovers berichtet (DeKretser 1967, Ritchie et al. 1984, el-Demiry et al. 1985, 1987, Pollanen et al. 1987, Wilkins et al. 1989, Bell et al. 1987). Diese Befunde reichen nicht aus, um die Lokalisation der Lymphozyten im Hoden zu verstehen und ihre Bedeutung für die Diagnostik zu begründen. Weitere Untersuchungen an Tierspezies (Maus: Ohata 1979, Ratte und Widder: Pollanen &

Maddocks 1988, Itoh et al. 1995, 1998) lassen sich nicht auf die Bedingungen beim Menschen übertragen.

In der vorliegenden Untersuchung sollen an einem großen Fundus von Semidünnschnitten menschlichen Hodengewebes das Vorkommen von Lymphozyten überprüft werden und anschließend an Autopsiematerial mit Hilfe immunhistochemischer Untersuchungen Aussagen über die Verteilung von Lymphozyten und ihrer Typen gemacht werden. Dabei steht die Frage im Vordergrund, ob bei gesunden Männern Lymphozyten im intertubulären Raum vorkommen und wo sie gegebenenfalls lokalisiert sind. Ziel der Untersuchung ist es, neue Aspekte für die Bewertung von intratestikulären Lymphozyten bei der histologischen Diagnostik von Fertilitätsstörungen zu gewinnen.

## **Material und Methoden**

### **Hodenbiopsien für die Semidünnschnittshistologie:**

Im Verlaufe der zurückliegenden 15 Jahre wurden über 1400 Hodenbiopsien im Rahmen der Fertilitäts- und Tumordiagnostik in Zusammenarbeit mit verschiedenen Urologischen Kliniken Hamburger und auswärtiger Krankenhäuser und der Abteilung für Andrologie des Universitäts-Krankenhauses Eppendorf im Anatomischen Institut der Universität Hamburg untersucht (Präparatefundus Prof. Dr. med. A.F. Holstein, Anatomisches Institut, Universität Hamburg). Aus diesem Fundus von Hodenbiopsien wurden rückläufig aus den Jahren 1999 bis 1994 148 Präparate berücksichtigt, die zur Fertilitätsdiagnostik eingeschickt waren und primär keinen Verdacht auf eine entzündliche Erkrankung des Hodens aufwiesen. Dann wurden aus einem Fundus von Patienten mit Hodentumor kontralaterale Biopsien von 283 Männern ausgewertet. Weiterhin wurden Hodengewebsproben von 142 Männern mit Prostata-Carcinom untersucht.

### **Hodenbiopsien zur Fertilitätsdiagnostik**

Die 148 zur Fertilitätsdiagnostik eingeschickten Gewebsproben stammen von Männern im Alter von 17-56 Jahren (Präparatefundus Prof. Dr. med. A.F. Holstein, Anatomisches Institut, Universität Hamburg). Sie waren entnommen worden von Patienten mit unklarer Einschränkung der Spermatogenese, mit Hodenhochstand, mit Azoospermie, mit Hodentrauma, mit Hydrozele, mit Samenstrangtorsion, Varicocele etc. Sie sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt, in der das Alter der Patienten, die Einsendediagnose, der Zustand der Spermatogenese (Score count, DeKretser und Holstein, 1976) und das Vorkommen von freien Lymphozyten berücksichtigt sind:

## Übersicht über Untersuchungsgut zur Fertilitätsdiagnostik eingeschickter Hodenbiopsien (1996 - 1999)

Präparatfundus Prof. Dr. med. A.F. Holstein

Lfd. Nummer	Alter	Diagnose	Score count	Lymphozytenvorkommen
1	19	Azoospermie	9	0
2	20	Azoospermie	10	0
3	22	Azoospermie	9	0
4	22	Azoospermie	10	0
5	22	Azoospermie	7	0/+
6	22	Azoospermie	10	0
7	22	Azoospermie	9	0
8	23	Azoospermie	10	0
9	24	Azoospermie	7	+
10	25	Azoospermie	9	0
11	25	Azoospermie	9	0
12	26	Azoospermie	7	0/+
13	27	Azoospermie	8	0
14	27	Azoospermie	8	0
15	28	Azoospermie	10	0
16	28	Azoospermie	10	0
17	28	Azoospermie	10	0
18	28	Azoospermie	9	0
19	29	Azoospermie	10	0
20	29	Azoospermie	10	0
21	30	Azoospermie	8	0
22	30	Azoospermie	9	0
23	31	Azoospermie	10	0
24	32	Azoospermie	9	0
25	32	Azoospermie	10	0
26	32	Azoospermie	9	0
27	33	Azoospermie	8	0
28	34	Azoospermie	8	0
29	34	Azoospermie	10	0
30	34	Azoospermie	10	0
31	34	Azoospermie	10	0
32	34	Azoospermie	5	+
33	35	Azoospermie	10	0
34	35	Azoospermie	9	0
35	36	Azoospermie	3	0
36	37	Azoospermie	3	+
37	38	Azoospermie	9	0
38	38	Azoospermie	8	0/+
39	38	Azoospermie	7	0
40	39	Azoospermie	6	0
41	39	Azoospermie	5	+
42	40	Azoospermie	8	+
43	40	Azoospermie	9	0

Lfd. Nummer	Alter	Diagnose	Score count	Lymphozytenvorkommen
75	33	Oligozoospermie	4	0/+
76	36	Oligozoospermie	6	0
77	36	Oligozoospermie	7	0
78	36	Oligozoospermie	8	0
79	36	Oligozoospermie	8	0/+
80	36	Oligozoospermie	6	0
81	37	Oligozoospermie	5	0
82	37	Oligozoospermie	8	0
83	38	Oligozoospermie	7	0
84	38	Oligozoospermie	8	0
85	38	Oligozoospermie	4	+
86	39	Oligozoospermie	7	0
87	39	Oligozoospermie	8	0
88	41	Oligozoospermie	9	0
89	42	Oligozoospermie	8	0
90	42	Oligozoospermie	8	0
91	42	Oligozoospermie	5	0
92	47	Oligozoospermie	7	0
93	49	Oligozoospermie	4	+
94	51	Oligozoospermie	8	0/+
95	52	Oligozoospermie	8	0
96	55	Oligozoospermie	8	0
97	55	Oligozoospermie	6	0/+
98	56	Oligozoospermie	7	+
99	20	Teratozoosperm.	9	0
100	53	Teratozoosperm.	9	0
101	18	Leistenhoden	2	0
102	19	Leistenhoden	5	0
103	19	Leistenhoden	8	0
104	20	Leistenhoden	3	0
105	21	Leistenhoden	7	0
106	21	Leistenhoden	3	0
107	21	Leistenhoden	3	0
108	24	Leistenhoden	3	0
109	27	Leistenhoden	6	0
110	18	Hodentrauma	9	0/+
111	20	Hodentrauma	5	0/+
112	22	Hodentrauma	7	+
113	36	Hodentrauma	8	0
114	20	Tu-Verdacht	10	0
115	22	Tu-Verdacht	9	0
116	29	Tu-Verdacht	9	0
117	32	Tu-Verdacht	9	0/+

Lfd. Nummer	Alter	Diagnose	Score count	Lymphozytenverkommen
44	42	Azoospermie	10	0
45	42	Azoospermie	10	0
46	43	Azoospermie	8	0
47	43	Azoospermie	8	0
48	44	Azoospermie	10	0
49	44	Azoospermie	9	0
50	44	Azoospermie	10	0
51	45	Azoospermie	7	0
52	46	Azoospermie	8	0
53	46	Azoospermie	4	+
54	47	Azoospermie	10	0
55	48	Azoospermie	8	0
56	48	Azoospermie	3	0
57	49	Azoospermie	6	0
58	49	Azoospermie	8	0
59	50	Azoospermie	6	0
60	50	Azoospermie	6	0
61	52	Azoospermie	9	0
62	57	Azoospermie	3	0
63	20	Oligozoospermie	8	0
64	21	Oligozoospermie	6	0
65	21	Oligozoospermie	9	0
66	23	Oligozoospermie	8	0
67	25	Oligozoospermie	5	0
68	26	Oligozoospermie	5	0
69	26	Oligozoospermie	5	0
70	28	Oligozoospermie	8	0
71	29	Oligozoospermie	3	0
72	29	Oligozoospermie	8	0
73	30	Oligozoospermie	8	0
74	33	Oligozoospermie	8	0/+
118	32	Tu-Verdacht	9	0
119	33	Tu-Verdacht	9	0/+
120	39	Tu-Verdacht	9	0
121	17	Samenstrangtorsion	5	++
122	19	Samenstrangtorsion	9	0
123	19	Samenstrangtorsion	8	0/+
124	23	Samenstrangtorsion	8	0/+
125	24	Samenstrangtorsion	3	+
126	44	Hodenschmerz	9	0
127	20	Varicocele	9	0
128	30	Varicocele	7	0
129	31	Varicocele	8	0
130	41	Varicocele	9	0
131	30	Hydrozele	9	0
132	31	Hydrozele	10	0
133	31	Hydrozele	9	0
134	32	Hydrozele	10	0
135	33	Hydrozele	9	0
136	36	Hydrozele	7	0
137	41	Hydrozele	10	0
138	44	Hydrozele	9	0
139	44	Hydrozele	10	0
140	45	Hydrozele	9	0
141	20	Triebtäter	10	0
142	27	Triebtäter	10	0
143	33	Triebtäter	10	0
144	49	Geschlechts- umwandlung	3	0
145	24	Zustand nach Epididymitis	7	0/+
146	26	Zustand nach Epididymitis	5	0/+
147	39	Dermoidzyste	9	0
148	28	Dermoidzyste	10	0

**Tabelle 1:** (Score count siehe Seite 17)

## Hodenbiopsien zur Tumordiagnostik

Zur Verfügung stand ein über 15 Jahre gesammeltes Biopsiematerial, das aus verschiedenen urologischen Kliniken zur histologischen Tumordiagnostik eingeschickt war. Es handelte sich um Hodenbiopsien von 1309 Patienten mit einseitigem Hodentumor, bei denen der kontralaterale Hoden auf das Vorliegen einer frühen Tumorerkrankung (CIS=Carcinoma-in-situ, TIN=testikuläre intratubuläre



Neoplasie) untersucht werden sollte. Bei 70 von diesen Patienten wurde im kontralateralen Hoden CIS festgestellt. Somit standen prinzipiell Gewebeproben von 1239 Patienten zur Verfügung, bei denen man davon ausgehen durfte, daß es sich um nicht erkrankte Hoden handelt.

Aus diesem Kontingent wurden aus materialbedingten Gründen nur die Patienten berücksichtigt, die in den Jahren 1997, 1998 und 1999 untersucht wurden. Die Zahl dieser Patienten beträgt 283.

## Übersicht über Untersuchungsgut für zur Tumordiagnostik eingeschickter Hodenbiopsien (1997 – 1999)

Präparatefundus Prof. Dr. med. A.F. Holstein

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
1	12	8	0
2	13	8	0
3	15	2	0
4	17	0	0
5	17	5	0
6	18	9	0
7	18	9	0
8	18	6	0
9	18	3	0
10	18	4	0
11	19	6	0
12	19	8	0
13	19	2	0
14	19	8	0
15	19	9	0
16	19	10	0
17	20	7	+
18	20	8	0
19	20	0	0
20	20	1	0
21	20	3	+
22	20	7	0
23	20	5	0

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
95	28	2	0
96	28	7	0
97	28	6	0
98	28	8	0
99	28	5	0
100	28	5	0
101	28	8	0
102	28	8	0
103	28	5	0
104	29	8	0
105	29	7	+
106	29	8	0
107	29	7	0
108	29	8	0
109	29	8	0
110	29	7	0
111	29	6	0
112	29	9	0
113	29	9	0
114	29	6	0/+
115	29	7	0
116	29	10	0
117	29	9	0

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
189	35	8	0
190	35	8	0
191	35	0	0
192	35	10	0
193	35	8	0
194	35	2	0
195	35	2	0
196	36	0	0
197	36	8	0
198	36	9	0
199	36	8	0
200	36	6	0
201	36	5	0
202	36	7	0
203	36	10	0
204	36	7	0
205	36	7	0
206	36	9	0
207	36	10	0
208	37	7	0/+
209	37	7	0
210	37	9	0
211	37	0	+

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
24	21	2	0
25	21	3	0
26	21	1	0
27	21	7	0
28	21	9	0
29	21	6	0
30	21	10	0
31	21	7	0
32	21	7	0
33	21	10	0
34	22	9	+
35	22	8	0
36	22	6	0
37	22	8	0
38	23	6	0
39	23	9	0
40	23	8	0
41	23	8	0/+
42	23	8	0
43	23	5	0
44	23	7	0
45	23	2	0
46	23	8	+
47	23	7	0
48	23	8	0
49	23	9	0
50	24	5	0
51	24	8	0
52	24	8	0
53	24	8	0
54	24	10	0
55	24	8	0
56	24	8	0
57	24	7	0
58	25	0	0
59	25	8	0
60	25	5	0
61	25	7	0

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
118	29	8	0
119	29	6	0
120	29	6	0
121	30	0	0
122	30	6	0
123	30	7	0
124	30	6	+
125	30	8	0
126	30	8	0
127	30	8	0
128	30	7	0
129	30	7	0
130	30	9	0
131	30	10	0
132	31	8	0
133	31	3	0
134	31	9	0
135	31	7	0
136	31	8	0
137	31	7	0
138	31	6	0
139	31	6	0
140	31	3	0
141	31	7	0
142	31	8	0
143	31	7	0
144	31	9	0
145	31	8	0
146	31	8	0
147	31	6	+
148	32	9	0
149	32	5	0
150	32	5	0
151	32	7	0
152	32	8	0
153	32	8	0
154	32	8	+
155	32	8	0

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
212	37	0	0
213	37	8	0
214	37	8	0
215	37	6	0
216	37	7	0
217	37	8	0
218	37	7	0
219	38	8	+
220	38	5	0
221	38	8	0
222	38	9	0
223	39	6	0/+
224	39	6	0
225	39	7	0
226	39	6	0
227	39	2	0
228	39	5	0
229	39	8	0
230	39	9	0
231	39	9	0
232	40	2	+
233	40	8	0
234	40	8	0
235	40	7	0
236	41	7	0
237	41	8	0
238	41	6	0
239	41	6	0
240	42	5	+
241	42	9	0
242	42	9	0
243	43	6	+
244	43	7	0
245	43	9	0
246	43	9	0
247	43	7	0
248	43	8	0
249	43	8	0

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
62	25	9	0
63	25	7	0
64	25	9	0
65	26	8	0
66	26	9	0
67	26	8	0
68	26	8	0
69	26	1	0
70	26	6	+
71	26	9	0
72	26	6	0
73	26	9	0
74	26	9	0
75	26	6	0
76	26	10	0
77	26	7	0
78	27	5	0
79	27	0	0
80	27	8	0
81	27	9	0
82	27	5	0
83	27	9	0
84	27	7	0
85	27	7	0
86	27	10	0
87	27	8	0
88	27	10	0
89	27	8	0
90	27	9	0
91	28	8	0
92	28	10	0
93	28	2	0
94	28	9	0

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
156	32	9	0
157	32	10	0
158	33	8	0
159	33	6	0
160	33	7	0
161	33	8	0
162	33	3	0
163	33	10	0
164	33	8	0
165	33	7	0
166	33	6	0
167	33	9	0
168	33	0	0
169	33	0	0
170	33	8	0
171	33	5	0
172	33	6	0
173	33	10	0
174	33	6	0
175	33	2	0
176	33	9	0
177	33	10	0
178	33	9	0
179	34	6	0
180	34	8	0
181	34	8	0
182	34	8	0
183	34	6	0
184	34	9	0
185	34	8	0
186	34	5	0
187	35	9	0
188	35	9	0

Lft. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten vorkommen
250	43	10	0
251	44	6	0
252	44	5	0
253	44	9	0
254	44	7	0
255	44	7	0
256	45	6	0
257	45	8	0
258	46	0	+
259	46	6	0
260	46	8	0
261	47	9	0
262	47	8	0
263	47	6	0
264	47	8	0
265	48	9	0
266	48	8	0
267	48	2	+
268	48	6	+
269	49	8	0
270	49	4	+
271	50	7	+
272	51	2	0
273	52	8	+
274	52	8	0
275	54	9	0
276	55	3	0
277	55	9	0
278	57	10	0
279	58	7	0
280	60	4	+
281	62	7	0
282	70	6	0/+
283	73	6	+

**Tabelle 2:** (Score count siehe Seite 17)

## Hodengewebe von Patienten mit Prostata-Carcinom

Die Gewebeproben von Männern mit Prostata-Carcinom stammten von 142 Männern im Alter von 38 - 90 Jahren und werden in folgender Übersicht dargestellt. Berücksichtigt werden Alter der Patienten, Spermatogenesebefund (Score count) und Lymphozytenvorkommen.

### Übersicht über Untersuchungsgut für Patienten mit Prostata-Carcinom (1977-81)

Präparatefundus Prof. Dr. med. A.F. Holstein

Lfd. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten-vorkommen
1	38	10	0
2	40	9	0
3	43	7	0
4	43	9	0
5	49	1	0
6	50	10	0
7	53	9	0
8	53	10	0
9	54	1	0
10	58	7	0
11	58	10	0
12	58	0	0
13	58	8	0
14	58	7	0
15	59	9	0
16	59	7	0
17	60	7	0
18	60	10	0
19	60	0	0
20	61	8	0
21	62	6	0
22	62	10	0
23	62	7	+
24	62	1	0
25	63	9	0
26	64	8	+
27	65	0	+
28	65	7	+
29	65	7	0

Lfd. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten-vorkommen
72	72	3	+
73	72	6	0
74	72	5	+
75	72	7	0
76	72	0	+
77	72	0	0
78	72	8	0
79	72	6	0
80	73	9	0
81	73	0	0
28	73	8	0
83	73	7	+
84	73	8	0
85	73	7	+
86	73	7	0
87	73	6	0
88	74	2	0
89	74	8	0
90	74	7	0
91	74	6	0
92	74	5	0
93	74	2	++
94	74	8	0
95	75	8	0
96	75	7	0
97	75	8	0
98	75	7	0
99	75	3	+
100	75	8	0

Lfd. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten-vorkommen
30	65	6	0
31	66	9	0
32	66	9	0
33	66	7	0
34	66	5	0
35	66	9	0
36	66	0	+
37	67	8	0
38	67	8	0
39	67	7	+
40	67	5	0
41	67	8	0
42	67	8	0
43	67	5	0
44	67	8	0
45	68	9	0
46	68	6	0
47	68	7	0
48	68	6	0
49	68	1	+
50	68	2	+
51	68	9	0
52	69	0	+
53	69	8	0
54	69	0	0
55	69	9	0
56	69	7	0
57	69	9	0
58	69	0	0
59	69	2	0
60	70	6	0
61	70	9	0
62	70	9	0
63	70	7	0
64	70	9	0
65	71	8	0
66	71	6	0
67	71	4	+
68	71	4	0
69	71	1	+
70	71	4	0
71	71	0	0

Lfd. Nummer	Alter	Score count	Lymphozyten-vorkommen
101	75	6	0
102	76	1	+
103	76	10	0
104	76	7	0
105	76	8	0
106	76	0	+
107	76	9	0
108	76	9	0
109	76	7	0
110	77	0	+
111	77	5	+
112	77	0	+
113	77	6	0
114	77	1	+
115	77	7	0
116	77	7	0
117	78	0	++
118	78	8	0
119	78	7	0
120	78	0	0
121	78	2	+
122	79	5	0
123	79	6	0
124	79	5	0
125	80	6	0
126	80	0	0
127	80	8	0
128	80	6	0
129	80	0	+
130	81	8	0
131	81	8	0
132	82	7	0
133	82	4	0
134	82	8	0
135	82	7	0
136	82	1	+
137	83	8	0
138	84	9	0
139	86	7	0
140	87	4	0
141	87	4	+
142	90	7	0

**Tabelle 3:** (Score count siehe Seite 17)

## **Paraffinschnitt-Histologie und Immunhistochemie:**

### **Hodengewebsproben von Autopsien**

Für die immunhistochemische Untersuchung dienten Hoden-gewebsproben von 106 Männern im Alter von 25-91 Jahren, die in dem Zeitraum vom 3.2.1998 bis 22.7.1998 in Hamburg verstarben und wegen ungeklärter Todesursache in das Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg eingeliefert wurden. Die im Rahmen der Autopsie routinemäßig entnommenen Hodengewebsproben wurden in Amtshilfe im Anatomischen Institut untersucht. Die Gewebsproben waren regelmäßig aus der gleichen Region der Hoden (mittlerer mediastinaler Bereich) entnommen. Unmittelbar nach der Entnahme wurden die Hodengewebsproben in Bouin'scher Lösung über 24 Std. fixiert (Boeck 1989), in der aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und über Methylbenzoat in Paraplast eingebettet. Von den Paraffinblöcken wurden Serienschnitte angefertigt.

In der folgenden Tabelle wird das Untersuchungsgut dargestellt. Die Todesursache wurde vom Institut für Rechtsmedizin festgestellt. Die Liegezeit zwischen Tod und Sektion wurde ebenfalls vom Institut für Rechtsmedizin angegeben. Die Bewertung des Erhaltungszustands der Gewebsproben in schlecht (III), befriedigend (II) und gut (I) folgte einer zuvor aufgestellten Definition (siehe Seite 17). Der Zustand der Spermatogenese wurde in Anlehnung an das Score count-Verfahren von DeKretser und Holstein (1976) bewertet.

## Übersicht über Untersuchungsgut für immunhistochemische Untersuchungen (1998):

Fortlaufend Nummer	Alter	Todesursache	Liegezeit	Erhaltungszustand des Gewebes	Spermatogenesebefund nach modifiziertem Score count	T-Lymphozytenbefund	B-Lymphozytenbefund
1	25	Suizid	3	III	A	1a - 6	1a
2	28	Lungenembolie	1	I	B	1a	1a - 6
3	29	Drogenintoxikation	7	II	B	∅	∅
4	29	Suizid	3	III	A	1b	1a
5	30	Asthmaanfall	1	I	A	1b	∅
6	31	Drogenintoxikation	4	III	C	1a	1a
7	31	Drogenintoxikation	5	III	B	1a	1a
8	32	Drogenintoxikation	3	III	B	2e - 3, 4	1b
9	33	Herzversagen	4	II	C	1a	1a - 6
10	34	Herzversagen	4	II	A	2e - 4, 6	1a
11	34	Herzversagen	7	II	C	2d - 3, 4	1a
12	35	Suizid	4	III	C	1a	∅
13	35	Suizid	3	III	B	1b	1a
14	36	Drogenintoxikation	3	II	A	1b	1a
15	36	Drogenintoxikation	6	III	A	2d - 3, 4	1a
16	36	Lungenembolie	1	II	A	1a - 6	∅
17	36	Drogenintoxikation	3	II	A	1b - 6, 8	∅
18	37	Aneurysmablutung	1	I	B	1a - 6	1a
19	37	Herzversagen	2	III	B	2a - 4	∅
20	38	Drogenintoxikation	4	III	B	1b	1a
21	39	Drogenintoxikation	3	III	C	2e - 4, 3	1b
22	39	TBC	2	I	D	2d - 3, 7	2d - 3
23	40	Pneumonie	5	II	C	2d - 3, 7	2d - 3, 4
24	40	Herzversagen	2	III	C	2d - 3, 4	1a
25	41	Herzversagen	5	III	C	1c - 6	1a
26	41	Pneumonie	4	II	C	2a - 3	1a
27	42	Suizid	2	I	C	1a	1a
28	42	Drogenintoxikation	6	II	A	2e - 3	1a
29	43	Herzversagen	2	II	B	2e - 3, 4	1a
30	45	Drogenintoxikation	4	III	C	2e - 3, 4	1a
31	46	Blutgerinnungsstör.	5	III	C	2e - 3, 6	1a
32	47	Lungenembolie	4	III	D	2d - 3, 4	1a
33	47	Herzversagen	4	I	B	1a	1a
34	48	Suizid	1	II	C	2e - 3	2a - 3
35	48	Zentraler Tod bei alter ausgedehnter Hirn-erweichung unklarer Genese	2	III	C	1a - 6	1a
36	49	Drogenintoxikation	3	II	C	2d - 3	∅

Fortlaufend Nummer	Alter	Todesursache	Liegezeit	Erhaltungszustand des Gewebes	Spermatogenesebefund nach modifiziertem Score count	T-Lymphozytenbefund	B-Lymphozytenbefund
37	49	Herzversagen	3	III	B	2d - 3, 4, 6	∅
38	49	Pneumonie	5	II	D	1a	∅
39	50	Drogenintoxikation	4	III	C	2d - 3, 4, 6, 7	1a
40	50	Herzversagen	2	III	A	2d - 3, 4	1a
41	50	Schädel-Hirn-Trauma	2	I	A	1a	1a
42	50	Suizid	3	III	B	2e - 3, 4, 6	2e - 3, 4, 6
43	51	Herzversagen	6	III	B	2a - 4, 6	1a
44	52	Folge eines tumorösen Geschehens	5	II	D	1b	1a
45	52	Aneurysmablutung	1	I	A	1b	∅
46	53	Herzversagen	6	III	B	2a - 3, 6	1a
47	53	Schädel-Hirn-Trauma	6	I	B	2a - 4, 6	1a
48	53	Herzversagen	7	II	A	1b - 6, 8	1a
49	54	Herzversagen	3	III	B	2a - 3	1a - 6
50	55	Herzversagen	5	III	A	2b - 3	1a
51	55	Suizid	3	II	B	1b - 6	∅
52	55	Suizid	1	III	C	1a - 6	1a
53	55	Herzversagen	5	III	C	2a - 3	1a
54	55	Herzversagen	3	III		2a - 4, 6	1a
55	56	Herzversagen	1	II	A	2e - 4, 6	1a
56	56	Herzversagen	4	III	A	2d - 3, 4, 6	2d - 3, 4
57	57	Drogenintoxikation	4	I	B	2e - 3, 4	1a
58	57	Herzversagen	3	III	A	1b - 6	∅
59	57	Herzversagen	3	II	C	2b - 3, 4	1a
60	58	Herzversagen	2	III	B	2e - 3, 4	1a - 6
61	58	Herzversagen	5	I	B	2e - 3, 4	1a
62	60	Suizid	5	II	D	2d - 3	1c
63	60	Respiratorische Insuffizienz	3	III	A	1c - 6	1a
64	61	Folge eines tumorösen Geschehens	2	II	C	1a - 6	1a
65	61	Suizid	6	II	C	2d - 3, 4, 7	2e - 4, 6
66	61	Herzversagen	4	III	C	2d - 3	1a
67	62	Herzversagen	3	I	C	2e - 3, 6	2a - 3
68	63	Herzversagen	5	III	A	1a	1a
69	64	Herzversagen	3	III	A	1c	1a
70	64	Aneurysmablutung	5	II	A	1a	1a
71	64	Herzversagen	3	II	B	2a - 3	1a



Fortlaufend Nummer	Alter	Todesursache	Liegezeit	Erhaltungszustand des Gewebes	Spermatogenesebefund nach modifiziertem Score count	T-Lymphozytenbefund	B-Lymphozytenbefund
72	66	Herzversagen	4	III	C	1a	1a
73	66	Herzversagen	3	III	B	1b – 6	1a
74	67	Herzversagen	7	III	C	2b – 3	1a
75	68	Herzversagen	2	II	A	1b - 6	1a – 6
76	68	Folge eines tumorösen Geschehens	4	II	C	2e – 4, 6	2a – 4
77	69	Herzversagen	6	II	A	1b – 6	∅
78	70	Suizid	2	III	A	1a	∅
79	70	Herzversagen	3	III	B	2a – 3	1a
80	71	Dekompensierte Leberzirrhose	2	I	D	2e – 4	∅
81	71	Herzversagen	3	III	A	2b – 3, 4	2e – 4
82	72	Suizid	1	III	C	1a – 6	1a
83	73	Herzversagen	2	III	A	1c – 6	∅
84	73	Diabetisches Hyperglykämisches Koma	5	I	A	2e – 3, 4, 5, 7	1a – 6
85	73	Herzversagen	4	III	A	1a	∅
86	73	Herzversagen	5	I	D	2d - 3, 4, 6	1a – 7
87	74	Herzversagen	2	III	B	1a – 6	1a
88	74	Herzversagen	1	III	D	1c – 6	1c
89	75	Herzversagen	2	II	A	1b – 6	1a
90	76	Drogenintoxikation	3	III	C	1b - 7, 8	1a
91	78	Aneurysmablutung	3	II	A	2e – 3, 4	1b - 6
92	78	Chronisch-Respiratorische Insuffizienz	3	I	B	1a	1a
93	78	Herzversagen	4	I	A	1b - 8	1a
94	79	Herzversagen	2	III	C	1b	1a
95	79	Aneurysmablutung	4	I	D	2d – 3, 4, 6	1a
96	80	Hirnfarkt	3	I	D	1b	1a
97	81	Herzversagen	3	I	D	1d – 8, 7	1b
98	84	Herzversagen	3	III	C	2b – 3	2e - 3
99	84	Drogenintoxikation	5	I	B	1c	1a
100	85	Herzversagen	2	I	B	1a	∅
101	85	Herzversagen	4	II	A	2d – 3, 4, 6,7	1a
102	85	Herzversagen	5	I	C	1a	2a - 3
103	85	Drogenintoxikation	2	III	A	1c	1b
104	87	Aneurysmablutung	3	II	D	2e – 4, 6	1a - 7
105	87	Aneurysmablutung	3	III	D	1a	1b
106	91	Herzversagen	4	I	D	2d - 3, 4	1a

Tabelle 4: (Score count siehe Seite 17)

## Zeichenerklärungen

### Erhaltungszustand:

#### **I: guter Erhaltungszustand**

Regelrechter Aufbau des Keimepithels mit normaler Struktur der Keimzellen und Sertolizellen, regelrechte Struktur der Lamina propria der Hodenkanälchen, geringgradige Schrumpfspaltenbildung im intertubulären Gewebe mit regelrechter Struktur der Leydigzellen und Gefäße

#### **II: befriedigender Erhaltungszustand**

regelrechter Aufbau des Keimepithels, jedoch mit Desintegration z.B. der Spermatozytenkerne, geringgradige Vakuolenbildung im Keimepithel und in der Lamina propria, verstärkte Schrumpfspaltenbildung im intertubulären Raum mit teilweiser Desintegration der Leydigzellen

#### **III: schlechter Erhaltungszustand**

regelrechter Aufbau des Keimepithels, jedoch massive Autolyse der Keimzellen, Zerreißung des Keimepithels, Spaltung der Struktur der Lamina propria, breite Schrumpfspalten im intertubulären Raum, partieller Zerfall der Leydigzellen

### Lymphozytenvorkommen:

++	:	<b>orchitisartige lymphozytäre Infiltration</b>
+	:	<b>starke lymphozytäre Infiltration</b>
0/+	:	<b>leichte lymphozytäre Infiltration</b>
0	:	<b>kein Lymphozytenvorkommen</b>

**Lymphozytenverteilung:**

- 1a: bis 10 dissiminierte Lymphozyten
- 1b: zwischen 10 und 50 dissiminierte Lymphozyten
- 1c: größer 50 dissiminierte Lymphozyten
- 2a: bis 10 dissiminierte Lymphozyten und 1 Cluster
- 2b: bis 10 dissiminierte Lymphozyten und mehr als 1 Cluster
- 2c: zwischen 10 und 50 dissiminierte Lymphozyten und 1 Cluster
- 2d: zwischen 10 und 50 dissiminierte Lymphozyten und mehr als 1 Cluster
- 2e: größer 50 Lymphozyten und mehr als 1 Cluster

**Lokalisationen der Clusterbildungen:**

- 3: peritubulär
- 4: perivaskulär

**Gebiete, in denen einzelne Lymphozyten besonders auffielen:**

- 5: perivaskulär in Tunica vasculosa
- 6: um degenerierte Tubuli seminiferi
- 7: um intratestikuläre Gefäße herum

**Bewertung des Status der Spermatogenese:**

**„Score count“ nach DeKretser D. M., Holstein A.F. (1976)**

Score-count	Histologische Kriterien	Diagnosen	
10	Mehr als 20 reife Spermatozoen pro Tubulus Höhe des Keimepithels 80 µm Zonen mit Spermiatio zahlreich	Intakte Spermatogenese	A
9	Mehr als 20 reife Spermatozoen pro Tubulus Höhe des Keimepithels < 80 µm Zonen mit Spermiatio selten	Reduzierte Spermatogenese (Hypospermatogenese)	
8	Weniger als 20 reife Spermatozoen pro Tubulus Höhe des Keimepithels < 80 µm Keine Zonen mit Spermiatio		B
7	Keine reifen Spermatozoen Zahlreiche rundkernige, unreife Spermatozoen	Spermatozoen-Differenzierungsstörung	C
6	Keine reifen Spermatozoen Wenige rundkernige, unreife Spermatozoen		
5	Keine Spermatozoen Zahlreiche Spermatozyten I	Stillstand der Spermatogenese bei Spermatozyten I	
4	Keine Spermatozoen, wenige Spermatozyten I		
3	Keine Spermatozoen Keine Spermatozyten I Nur Spermatoγονien	Stillstand der Spermatogenese bei Spermatoγονien	
2	Keine Keimzellen Nur Sertolizellen	Sertolizell-Syndrom	D
1	Kein Keimepithel, Nur „Tubulusschatten“	Tubulusatrophie	

**Tabelle 5**

## **Materialaufarbeitungsmethoden**

### Fixierung der Gewebeproben:

Das bei der Sektion entnommene Gewebe aus dem mittleren mediastinalen Bereich beider Hoden jeweils eines Mannes wurde in frisch angesetzter Bouin'scher Lösung bei Raumtemperatur für 24h fixiert. Anschließend wurden die Gewebeproben in 4 bis 6 ca. 2 x 1,5cm große Stücke geschnitten.

Für 100ml Bouin'scher Lösung wurden 75ml Pikrinsäure (Merck), 15ml Formaldehyd (37%ig, Merck) und 5ml Eisessig (100%ig, Riedel de Haen) angesetzt.

### Paraffineinbettung:

Nach Fixierung in Bouin'scher Lösung wurden die Gewebstücke einem 3tägigen Dehydratationsverfahren mittels aufsteigender Alkoholreihe unterzogen. Beginnend mit der mehrmals ausgewechselten Spüllösung von 70%igem Äthanol für zwei Tage, schloß sich die automatische Entwässerung im Paraffinautomaten (2 Stunden 80%, 1 Stunde 95%, 5 x 1 Stunde 100% Äthanol) an. Es folgte die Übertragung in Methylbenzoat (Merck) für 3 x 2 Stunden. Vor abschließendem Eingießen in Paraffinblöcke, wurde das Gewebe in flüssigem Paraffin/Histowax (Reichert & Jung) für zunächst zwei, dann acht Stunden eingelegt.

## **Beschichtung von Objektträgern, Paraffinschnittechnik und Färbungen**

### Beschichtung der Objektträger mit Gelatine-Chromalaun:

Zur Verbesserung der Schnitthftung am Objektträger während der immunhistochemischen Untersuchungen wurden die Objektträger zuvor mit einer Gelatine-Chromalaun-Mischung beschichtet. Zum Herstellen dieser Lösung wurden 500mg pulverisierte Gelatine (Sigma) mit 50mg Chromalaun (Kaliumchromsulfat; Sigma) in 100 ml Aqua dest. zum Quellen gebracht, anschließend unter Rühren auf

50° C erwärmt und im warmen Zustand filtriert. Die staubfreien Objektträger wurden anschließend in die Lösung eingetaucht und in Trockenkästen für 24 Stunden aufgestellt.

### Herstellung von Paraffinschnitten:

Das Schneiden der Paraffinblöcke erfolgte an einem Schlittenmikrotom der Firma Zeiss. Es wurden 5µm dicke Schnitte für die Hämalaun-Eosin-Färbung auf unbeschichtete Objektträger und 6µm dicke Schnitte auf die Gelatine-Chromalaun sowie auf die Silan-beschichteten Objektträger für die immunhistochemischen Untersuchungen aufgetragen. Die Schnitttrocknung erfolgte bei 40° C.

### Färbung der Paraffinschnitte mit Hämalaun-Eosin:

Zur generellen Übersicht und histologischen Befunderhebung wurde von jedem der Blöcke ein Schnitt mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Zu diesem Zweck wurden die Schnitte in 3 x 5 Minuten Xylolersatzlösung XEM-200 (Vogel) entparaffiniert. Es folgte die Rehydratation der Schnitte mittels einer absteigenden Alkoholreihe (je 5 Minuten 100%, 95 %, 80%, 70% Äthanol und Aqua dest.). Im Anschluß daran wurde eine 5 bis 7-minütige Zellkernfärbung mit 0,5% iger Mayers Hämalaunlösung (Merck) durchgeführt. Kurzes Differenzieren in 1 %iger Essigsäure und Ausspülen des Farbüberschusses mit normalem Leitungswasser folgten. Die Hämalaun-Kernfärbung wurde durch ein 10minütiges Spülen unter fließendem Leitungswasser entwickelt (auch „Bläuen“ genannt). Die Gegenfärbung erfolgte in einer 0,1 % igen Eosin/Äthanol-Lösung (Merck) für 3 bis 7 Minuten. Kurzes Differenzieren in 96% igem Äthanol entfernte überschüssiges Eosin und stellte den Anfang des Gewebsdehydratationsvorganges dar. Zum Abschluß wurde das Gewebe mit 3 x 5 Minuten Xylolersatzlösungsbädern behandelt und mittels Eukitt (O. Kindler) eingedeckt.

## **Verwendete Antikörper und Methodik der Immunhistochemie**

Alle immunhistochemischen Untersuchungen wurden mit der unkonjugierten Antikörper-Enzym-Brücken-Methode (Bourne 1983) durchgeführt. Es kamen zwei unterschiedliche, sowohl polyklonale als auch monoklonale Antikörper zur Anwendung.

Immunhistochemische Untersuchungen mit dem monoklonalen Antikörper Mouse Anti-Human B-cell, CD20 – L26, M755 (DAKO):

Die Untersuchung mittels des monoklonalen humanen CD 20-Antikörpers erfolgte nach der im Anatomischen Institut etablierten Methode:

Nach Inkubation des Gewebes für 3 x 5 Minuten in Xylolersatz zur Entparaffinierung, wurde das Gewebe in einer absteigenden Alkoholreihe (je 5 Minuten in 100%, 95%, 80%, 70% Äthanol und Aqua dest.) rehydriert und anschließend mit einem Kochsalz-Phosphatpuffer (PBS, eigene Herstellung) für 15 min gespült. Es folgte eine halbstündige raumtemperierte Inkubation des Gewebes mit 2 %igem normalen Rinderserum (NRS, Sigma).

Nach Abklopfen des NRS wurde der mit PBS-, BSA- und  $\text{NaN}_3$ -verdünnte monoklonale Antikörper (Verhältnis 1 : 10) auf die Schnitte mit Ausnahme der negativen Kontrollen getropft und für 24h in einer feuchten Kammer bei 4° C inkubiert. Die negative Kontrolle erhielt antikörperfreie PBS-, BSA-,  $\text{NaN}_3$ -Lösung. Als positive Kontrolle wurde humanes Milzgewebe genutzt. Dieses war freundlicherweise von dem Institut für Rechtsmedizin in Form von Paraffinblöcken zur Verfügung gestellt worden.

Nach der 24stündigen Inkubation wurde der Antikörper durch dreimaliges 10minütiges Waschen der Schnitte mit PBS entfernt. Anschließend wurde der 1 : 250 verdünnte Sekundärantikörper (anti-mouse IgG-Biotin, DAKO) aufgetragen und für 60 Minuten bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer inkubiert. Es folgte ein 2 x 10minütiges Waschen in PBS und die Inkubation der Schnitte für 30 Minuten mit dem Mouse-PAP-Komplex (1 : 10-Verdünnung mit PBS, DAKO). Anschließend wurde erneut mit PBS (2 x 10 Minuten) gewaschen und danach der ABC-Komplex

für 30 Minuten aufgetragen. Für jeweils 10 Minuten folgte ein Spülen in PBS und PB. Daran schloß sich die Entwicklung der Peroxidase-Aktivität für durchschnittlich 12 Minuten an. Die Länge der Entwicklungszeit wurde durch mikroskopische Kontrolle bestimmt. Es folgte ein 3 x 5minütiger Spülvorgang mit PBS und ein abschließendes Dehydrieren der Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 80%, 96%, 100%, 100% für je 5 Minuten). Nach Inkubation in Xylolersatzbädern (3 x 5 Minuten) wurden die Schnitte mittels Eukitt eingedeckt.

Es wurden grundsätzlich 100 bis 200µl der jeweiligen Seren oder Antikörper auf den Schnitt aufgetragen.

Immunhistochemische Untersuchung mit dem polyklonalen Antikörper Rabbit Anti-Human T-cell, CD3 A 452 (DAKO) unter Verwendung der „Mehrschrittmethod“:

In Vorversuchen ließ sich ein schwacher Reaktionsausfall an den Schnitten nach Anwendung des polyklonalen humanen CD3-Antikörpers erkennen, so daß zur Steigerung der Sensitivität des Antikörpers eine verfeinerte Methode - die „Mehrschrittmethod“ (Boeck 1989) - zur Anwendung kam.

Die Behandlung der Schnitte entsprach prinzipiell derer der monoklonalen Antikörper untersuchten Schnitte. Statt NRS wurde hier mit normalem 2% igem Schweineserum (NSS, Sigma) inkubiert. Als Verstärkungseffekt der Färbeergebnisse diente eine im zweimaligem wiederholten Wechsel durchgeführte Inkubation mit dem Rabbit-PAP (DAKO) und Anti-rabbit-IgG-Biotin (DAKO).



## Bestimmung der Zahl der Lymphozyten am Gewebsschnitt

Die untersuchte Größe des Gewebsschnitts wurde zum Vergleich der Präparate untereinander nach der kleinsten Schnittgröße definiert. Bei größeren Präparaten handelt es sich dann um einen Ausschnitt. Die definierte Schnittgröße beträgt  $25.000 \times 15.000 \mu\text{m}$ . Daraus folgert eine Fläche von  $3,75 \times 10^8 \mu\text{m}^2$ .

Die Zahl der Lymphozyten in einem Gewebsschnitt wird wie folgt angegeben:

- a) bis 10 disseminierte Lymphozyten:  
d.h. es fanden sich  $2,7 \times 10^{-4}$  Lymphozyten pro  $\mu\text{m}^2$
- b) zwischen 10 und 50 Lymphozyten  
d.h. es fanden sich zwischen  $2,7 \times 10^{-4}$  bis  $1,3 \times 10^{-3}$  Lymphozyten pro  $\mu\text{m}^2$
- c) größer 50 Lymphozyten  
d.h. es fanden sich mehr als  $1,3 \times 10^{-3}$  Lymphozyten pro  $\mu\text{m}^2$

Als Cluster wurden Lymphozytenansammlungen von mehr als 10 fokal gehäuften Lymphozyten bezeichnet. Das Vorkommen von Clustern wurde wie folgt zusammen mit dem Vorkommen von vereinzelt vorkommenden Lymphozyten unterschiedlicher Anzahl angegeben:

- a) 1 Cluster und bis zu 10 disseminierte Lymphozyten
- b) mehr als 1 Cluster und bis zu 10 disseminierte Lymphozyten
- c) 1 Cluster und zwischen 10 und 50 disseminierte Lymphozyten
- d) mehr als 1 Cluster und zwischen 10 und 50 disseminierte Lymphozyten
- e) mehr als 1 Cluster und größer 50 Lymphozyten

## **Befunde**

### **Semidünnschnitt-Histologie von Hodenbiopsien im Rahmen einer Fertilitätsdiagnostik**

In Semidünnschnitten von Hodengewebe sind die Strukturen des intertubulären Raums in idealer Weise zu beurteilen. Das schonende Fixierungs-, Einbettungs- und Aufbereitungsverfahren führt zu einer Gewebserhaltung, die eine Untersuchung mit dem Lichtmikroskop bis zur Grenze des Auflösungsvermögens des Lichtmikroskops ermöglicht. So können alle zellulären Elemente eindeutig identifiziert werden. Eine Erkennung von Lymphozyten und ihre Unterscheidung von Fibroblasten, Co-Zellen, Makrophagen, Plasmazellen Mastzellen und Granulozyten ist problemlos möglich. Lymphozyten präsentieren sich als kleine Zellen mit einem dicht anfärbaren Zellkern und einem schmalen Zytoplasmasaum. Deshalb sind die Semidünnschnitte am besten geeignet für eine zelluläre Diagnostik in solchen Schnittpräparaten (Roosen-Runge und Holstein 1978).

Lymphozyten im Intertubulären Raum sind selten singular anzutreffen. Anschnitte von Kapillaren, in denen Lymphozyten zufällig getroffen sind, können dieses Bild vortäuschen. Meistens bilden Lymphozyten, auch bei disseminierter Verteilung, kleine Gruppen von zwei bis drei Zellen. Diese legen sich fast immer anderen Strukturen an. Das sind vor allem Fibrozytenfortsätze, Perizyten von Blutgefäßen, kompartimentierende Zellen um Gefäße und um Tubuli seminiferi und gelegentlich auch Leydigzellen. Oft findet man Lymphozyten in Kontakt mit Makrophagen. Dabei handelt es sich meistens um Makrophagen, die sich durch zahlreiche intrazytoplasmatische Fetttropfen erkennen lassen. Sie gehören zu den Makrophagen, die ein regulärer Bestandteil des Intertubulären Raums sind. Sie werden in der internationalen Literatur als „resident macrophages“ bezeichnet. Die zweite Art von Makrophagen, die auch im Intertubulären Raum, aber auch in der Lamina propria oder sogar im Lumen eines Tubulus seminiferus anzutreffen ist, zeichnet sich durch einen meistens gelappten Zellkern und zahlreiche Zellfortsätze aus. Hier handelt es sich offensichtlich um die in das Gewebe zusätzlich einwandernden Makrophagen, sog. „immigrant macrophages“, die z.B. bei einer Orchitis oder nach Samenstrangtorsion in

großer Zahl anzutreffen sind. Enge Beziehungen zwischen Lymphozyten und Makrophagen sind ein bekanntes Bild einer aktiven lokalen Immunreaktion.

Hodenbiopsien von 148 Männern mit Fertilitätsstörungen standen zur Verfügung.

Davon hatten 62 Männer im Alter von 19 bis 57 Jahren eine Azoospermie, die auf einen Verschuß der ableitenden Samenwege durch eine Ductusaplasie, die auf einen Verschuß der ableitenden Samenwege durch eine Ductusaplasie, eine lange zurückliegende Epididymitis oder eine Vasoresektion zurückzuführen war. Das histologische Bild der Hodenkanälchen war uneinheitlich und wies keine Korrelation zur Ursache der Verschußazoospermie auf. Das histologische Bild der Hodenkanälchen war uneinheitlich.

In 32 von 62 untersuchten Gewebeproben bestand intakte Spermatogenese mit Spermiatio (Score count 10 - 9; Abb. 1). Dreißig der 62 untersuchten Biopsien zeigten eine reduzierte Spermatogenese bis hin zu Stillstand der Spermatogenese auf der Stufe der Spermatogonien (Score count 8 - 3).

In den 32 Hoden von Männern mit guter Spermatogenese (Score count 9, 10) konnten keine Lymphozyten im Intertubulären Raum gefunden werden (Abb. 2).

Bei 30 von 62 untersuchten Azoospermiepatienten gab es entweder unterschiedlich dicke Hodenkanälchen mit eingeschränkter Spermatogenese (Score count 8), Stillstand der Keimzellreifung auf der Stufe der Spermatogonien (Score count 3) oder teilweise eine fleckige Atrophie des Hodengewebes (Score count 1, Abb. 3). Hier sind Hodenkanälchen zugrunde gegangen und zu einer bindegewebigen Narbe geworden (Tubulusschatten, Abb. 4).

Bei 9 von diesen 30 untersuchten Gewebeproben von Männern mit Verschußazoospermie auf Grund einer Ductusaplasie konnten entzündliche Prozesse mit fokaler Lymphozyteninfiltration im Hoden festgestellt werden (Abb. 5). Zusätzlich fanden sich freie Lymphozyten im Intertubulären Raum überwiegend disseminiert, stellenweise aber auch in schalenartiger oder kappenartiger Anordnung um Blutgefäße (Abb. 6, 7).

In den übrigen 21 der 30 untersuchten Hodengewebeproben konnten keine Lymphozyten im Intertubulären Raum gefunden werden.

Bei 2 Männern erfolgte eine histologische Fertilitätsdiagnostik nach Epididymitis. In beiden Gewebeproben ließen sich Restzustände entzündlicher Prozesse mit fokalen Lymphozytenclustern erkennen (Abb. 8). Dieser Zustand wurde als chronische Begleitorchitis bei chronischer Epididymitis angesehen. Die Spermatogenese ließ in beiden Gewebeproben keine reifen Spermatozoen erkennen, sistierte auf der Stufe von unreifen Spermatozoen oder Spermatozyten I.

37 Männer waren wegen einer unklaren Situation bei Oligo- oder Teratozoospermie einer Biopsie unterzogen worden. In diesen Fällen bestanden dominierend schwere Störungen der Spermatogenese und Spermiogenese, teilweise mit Stillstand der Spermatogenese auf der Stufe der Spermatozyten I (Score count 5), oder teilweise auch auf dem Niveau der Spermatozoen (Score count 3). In den Gewebeproben von 8 dieser Männer waren vereinzelte, disseminiert verteilte Lymphozyten zu finden. Bei 3 Proben lag eine stärkere lymphozytäre Infiltration des intertubulären Raumes vor. 29 untersuchte Gewebeproben zeigten keine Lymphozyten.

Neun weitere Hoden von jungen Männern im Alter von 18 bis 24 Jahren wurden wegen eines nicht erfolgten Descensus testis als Leistenhoden untersucht. Die Spermatogenese war dominierend schlecht (Score count zwischen 8 und 2). Es fanden sich aber keine Lymphozyten.

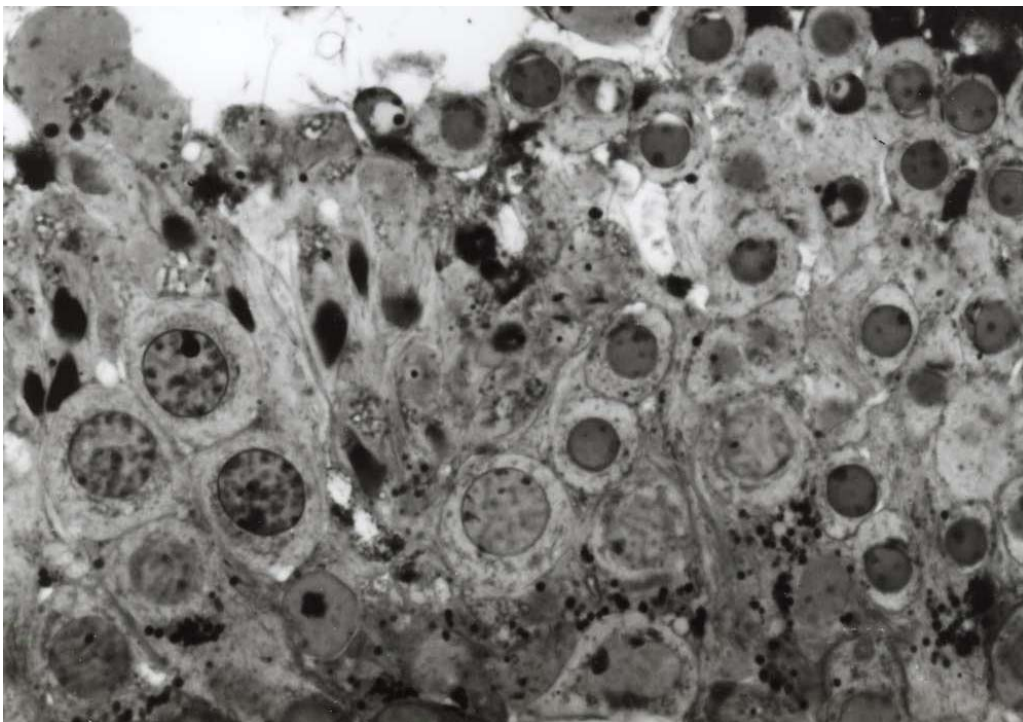
Weitere 4 Hodenbiopsien wurden im Rahmen einer Fertilitätsdiagnostik nach erfolgtem Hodentrauma entnommen. Klinische Angaben über die Traumata sind nicht bekannt. Die histologische Untersuchung ergab eine tendentiell reduzierte Spermatogenese (Score count 9 bis 5). Regelmäßig ließen sich Lymphozyten unterschiedlicher Zahl vorfinden.

Ähnliche Ergebnisse zeigten die histologischen Untersuchungen von Hodengewebe nach einer Samenstrangtorsion. Die Spermatogenese war gering reduziert bis hin zu einem Stillstand auf der Stufe der Spermatozoen. Lymphozyten waren regelmäßig in größeren Mengen vorhanden.

Bei 7 Männern im Alter zwischen 20 und 39 Jahren wurde eine Biopsie des Hodengewebes auf Grund eines suspekten Tastbefundes mit Verdacht auf einen Hodentumor durchgeführt. Die Spermatogenese war sehr gut bis geringgradig reduziert.

Zwei der Männer wiesen eine leichte lymphozytäre Infiltration bei geringgradig reduzierter Spermatogenese auf. Ein Hodentumor bestand nicht. Weitere klinische Verlaufsdaten fehlen.

Mit der Frage nach Fertilität wurden bei insgesamt 16 Patienten bei Vorliegen einer Varico- oder Hydrozele oder einer Dermoidzyste histologische Untersuchungen ihres Hodengewebes durchgeführt. Sie wiesen alle eine gute bis geringgradig reduzierte Spermatogenese auf. Lymphozyten waren in keinem der Schnitte zu erkennen.

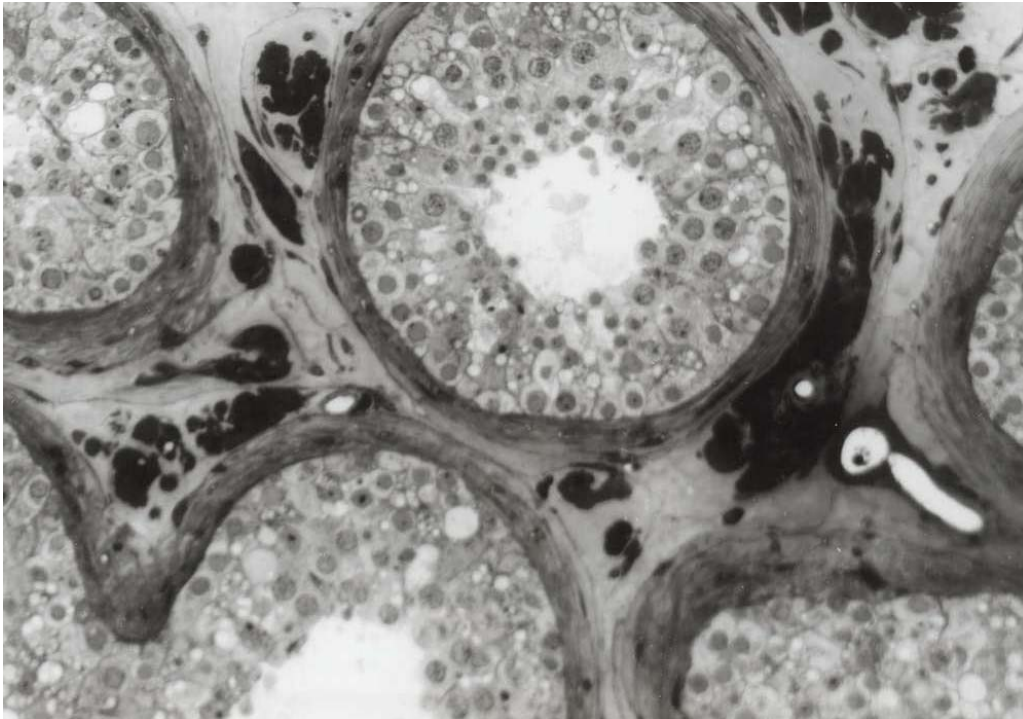


**Abbildung 1:**

Anschnitt aus Samenkanälchen eines 56-jährigen Mannes mit guter Spermatogenese (Score count 9).

Angeschnitten sind: Spermatogonien, Spermatozyten I, unreife Spermatiden, reife Spermatiden, reife Spermatozoen.

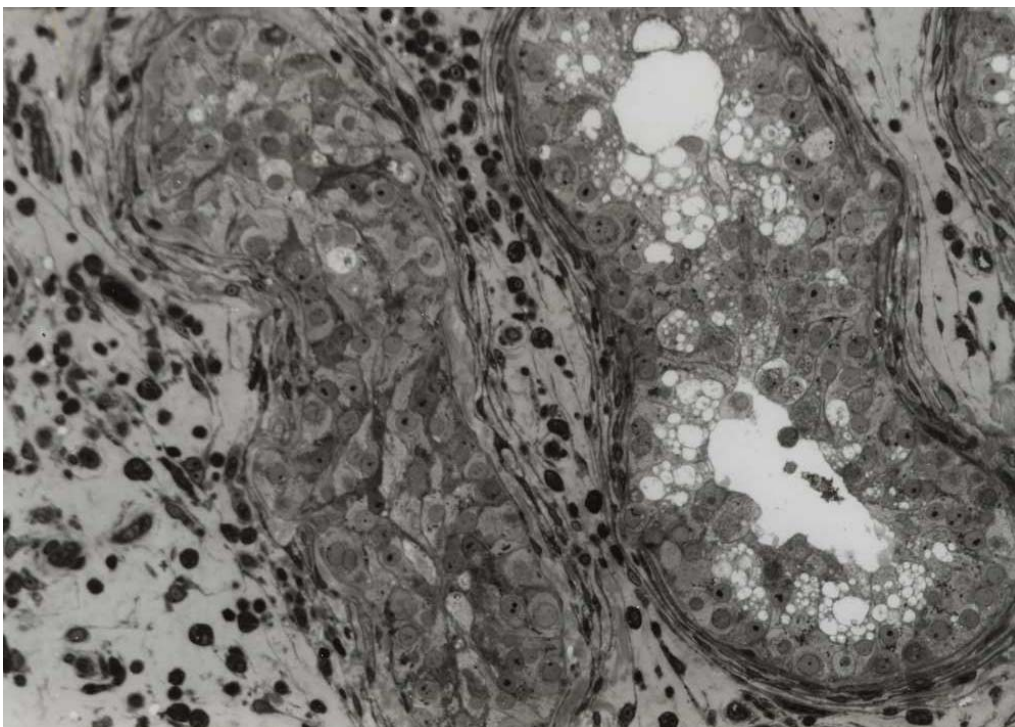
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin Färbung, 600-fach



**Abbildung 2:**

Anschnitt von Samenkanälchen aus dem Hoden eines 50-jährigen Mannes mit guter Spermatogenese. Im intertubulären Raum befinden sich Cluster von Leydigzellen und Gefäßanschnitten. Lymphozyten fehlen.

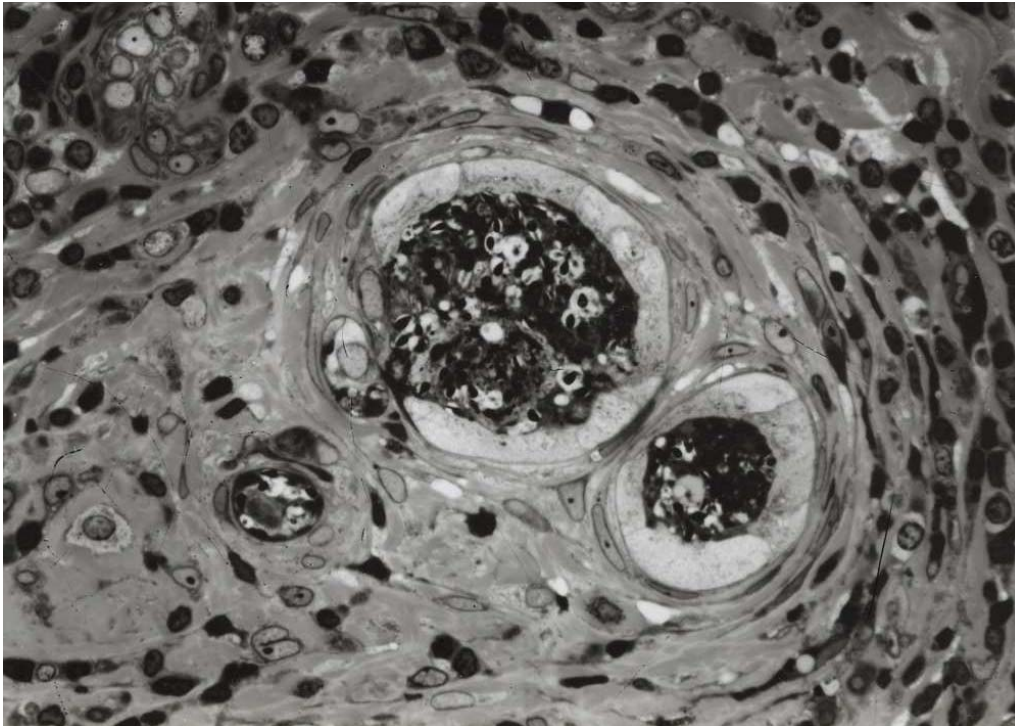
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin Färbung, 250-fach



**Abbildung 3:**

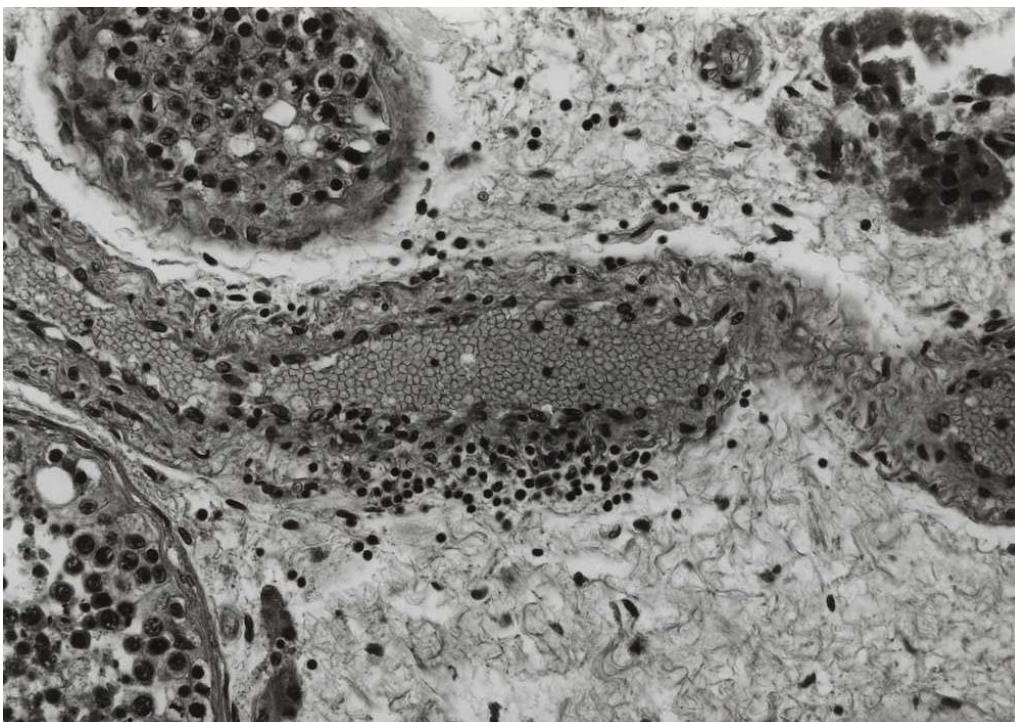
Fleckige Atrophie des Hodens mit degenerierenden Samenkanälchen und wenigen Lymphozyten im intertubulären Raum.

Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin Färbung, 250-fach



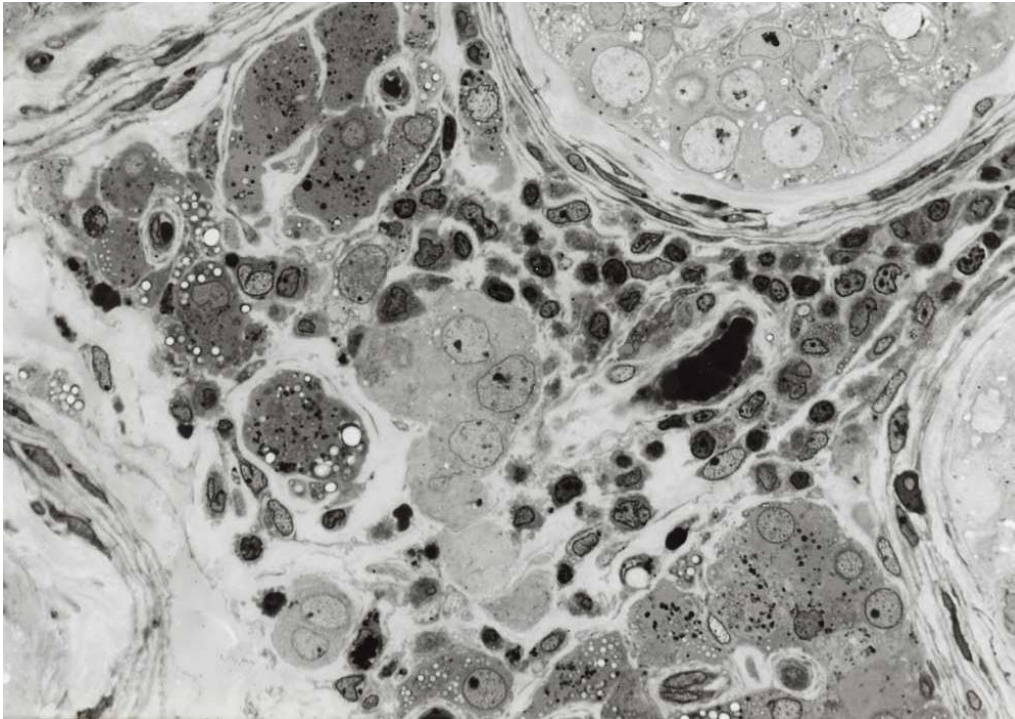
**Abbildung 4:**

Degenerierendes Hodenkanälchen mit stark verdickter Lamina propria. Im angrenzenden intertubulären Raum finden sich zahlreiche Lymphozyten. Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin Färbung, 250-fach

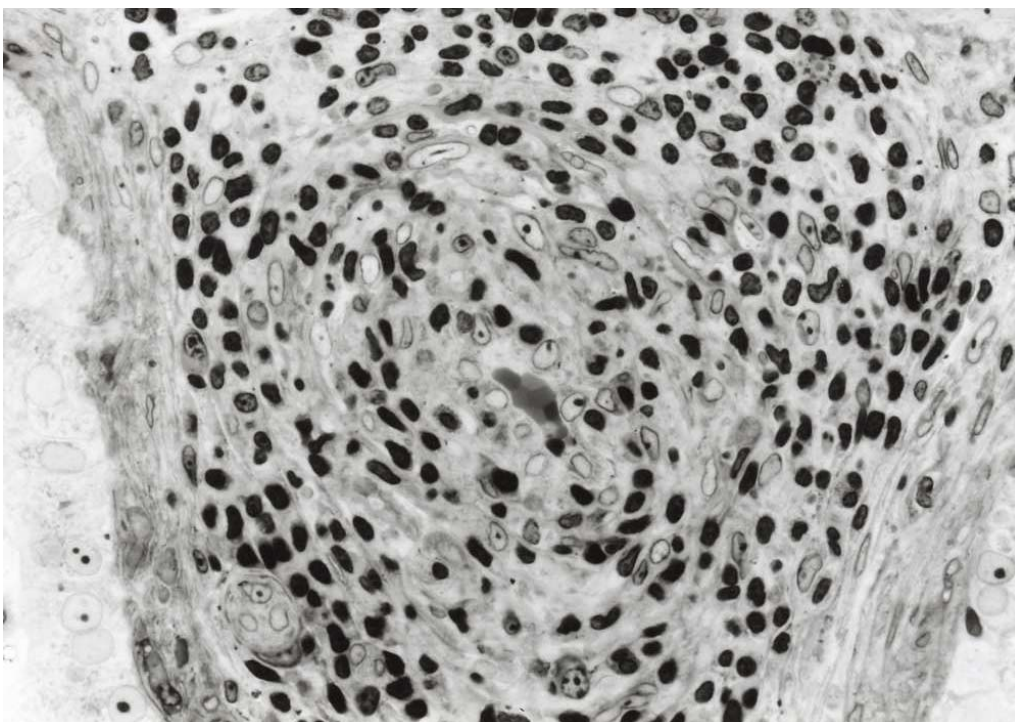


**Abbildung 5:**

Gefäßbegleitende Ansammlungen von Lymphozyten. Paraffinschnitt, H.-E., 250-fach

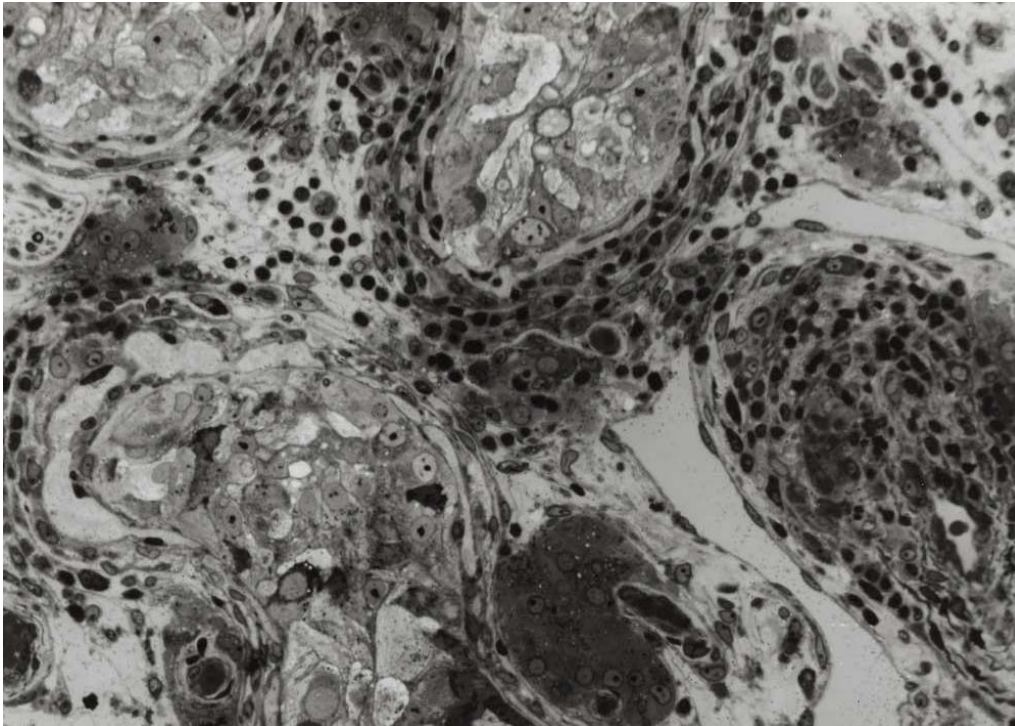


**Abbildung 6:**  
Vereinzelte dissimiente Lymphozyten im intertubulären Raum.  
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin Färbung, 250-fach



**Abbildung 7:**  
Schalenartig um eine Kapillare angeordnete Lymphozyten.  
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin Färbung, 600-fach





**Abbildung 8:**

Degenerierendes Samenkanälchen mit restlichen Sertolizellen und kappenförmig angeordneten Lymphozyten.

Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin Färbung, 250-fach

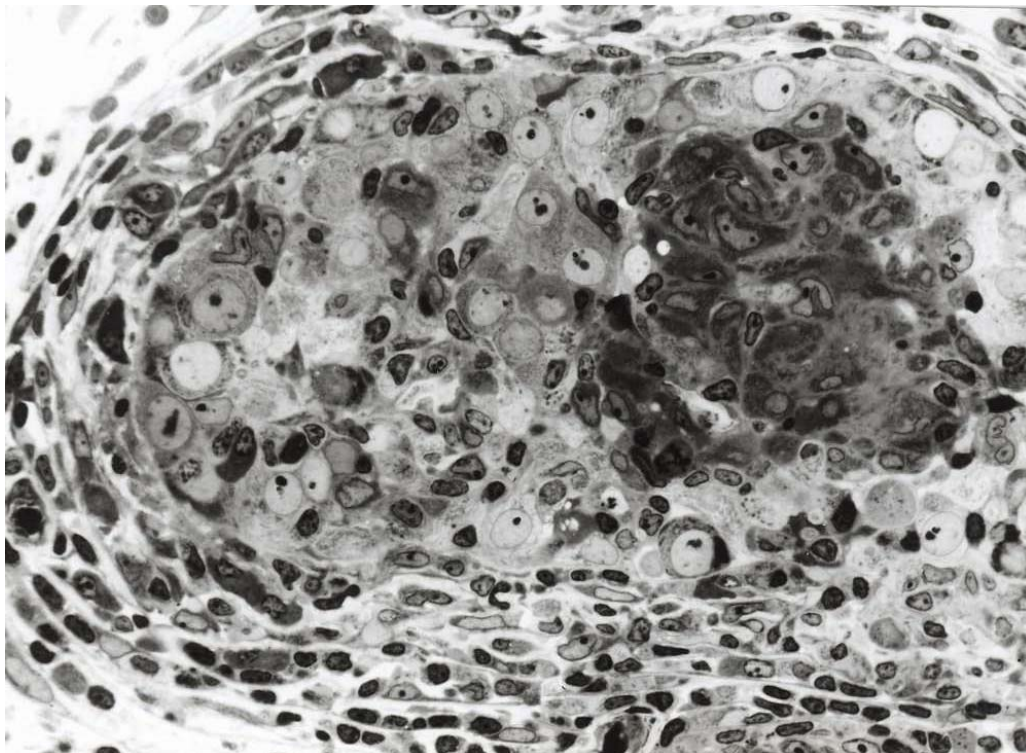
## Semidünnschnitt-Histologie von Hodenbiopsien im Rahmen einer Tumordiagnostik

In dem von 1200 Männern zur Tumordiagnostik entnommenen Hodengewebe konnten in 72 Fällen (= 5,2%) frühe Hodentumoren entdeckt werden (Fundus Prof. Holstein, Holstein 2000). Dabei handelte es sich entweder um ein auf das basale Kompartiment des Keimepithels beschränktes Vorkommen von frühen Tumorzellen des Typs Tc1 (Holstein et al. 1987) oder ein bereits das adluminale Kompartiment des Hodenkanälchens mit diesen Tumorzellen ausfüllendes intratubuläres Seminom (Abb. 9, 10). In 6 von diesen 72 Fällen war eine starke Vermehrung der freien Bindegewebszellen im Intertubulären Raum festzustellen, wobei auch disseminiert Lymphozyten erkannt werden konnten (Abb. 11). Die übrigen Hodenbiopsien von 66 Männern zeigten im Intertubulären Raum unauffällige Strukturen, aber regelmäßig vereinzelte Lymphozyten. Die Spermatogenese war in allen diesen Fällen sehr unterschiedlich. Neben intakter Spermatogenese gab es fokal massiv gestörte

Spermatogenese bis hin zur Tubulusatrophie. In diesen Fällen gab es immer Lymphozyten im intertubulären Raum.

In den Hodenbiopsien von 1128 Männern, die sich einer Tumordiagnostik unterzogen hatten, war kein Tumorprozess feststellbar. In 223 Fällen lag eine schwere Störung der Spermatogenese vor (Score count 8-3), die überwiegend auch mit einer massiven Leydigzellhyperplasie vergesellschaftet war. Hier konnten regelmäßig Lymphozyten im Intertubulären Raum gefunden werden. Sie waren überwiegend disseminiert verteilt, stellenweise aber auch um Blutgefäße gelagert und ganz vereinzelt bildeten sie sogar kappenförmige Ansammlungen um Anschnitte der Hodenkanälchen (Abb. 12).

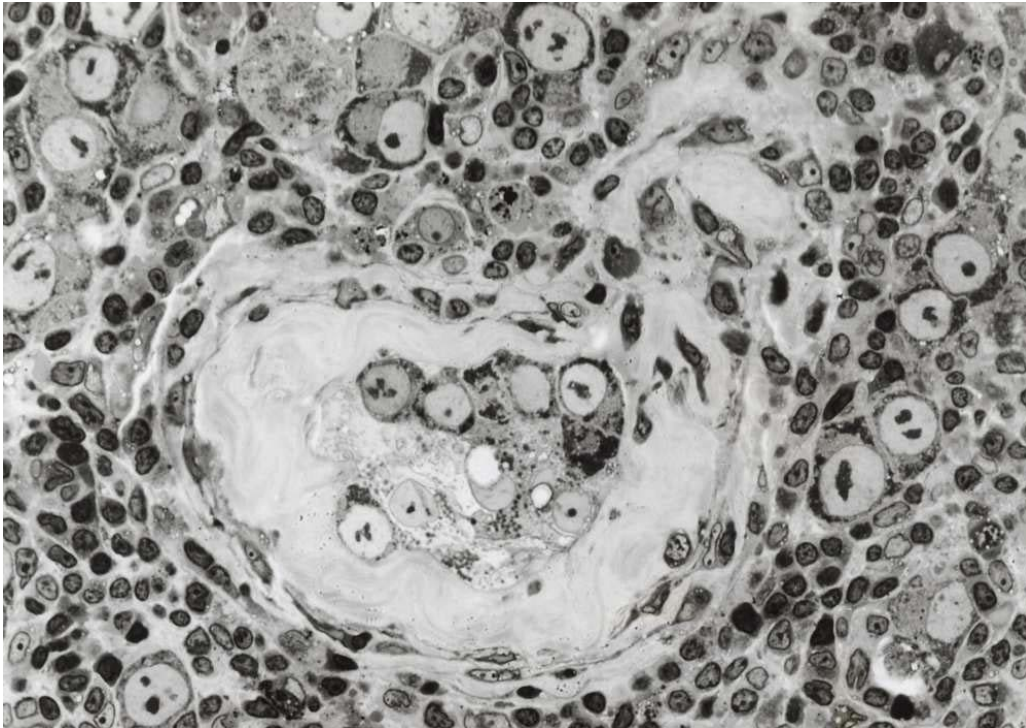
Bei den restlichen 905 Patienten konnten in den Hodengewebeproben im Intertubulären Raum keine Lymphozyten gefunden werden. Die Spermatogenese war in diesen Fällen geringgradig (Score count 9-8) reduziert.



**Abbildung 9:**

Hodenkanälchen mit frühen Tumorzellen in das Makrophagen und Lymphozyten eingewandert sind. Zahlreiche Lymphozyten umgeben außerdem schalenartig das Kanälchen.

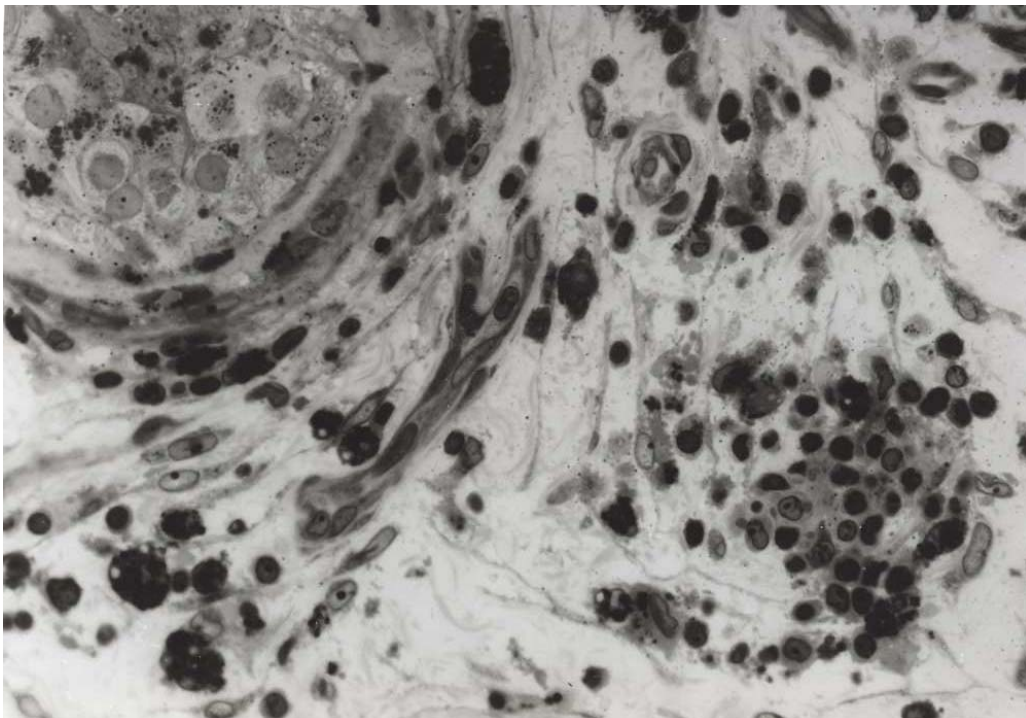
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin-Färbung, 600-fach



**Abbildung 10:**

Ein Hodenkanälchen hat sein Keimepithel verloren und enthält nur noch einige Tumorzellen. Der Intertubuläre Raum ist mit Lymphozyten und freien Tumorzellen ausgefüllt.

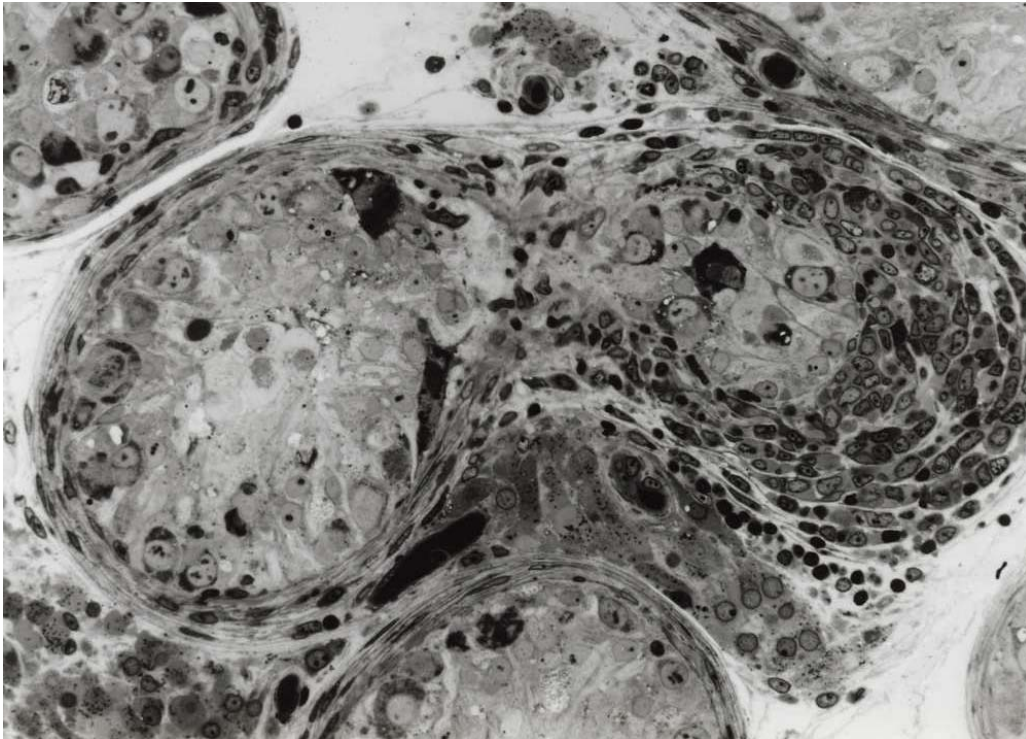
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin-Färbung, 600-fach



**Abbildung 11:**

Dissiminiertes Vorkommen von Lymphozyten bei CIS.

Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin-Färbung, 800-fach



**Abbildung 12:**  
Kappenförmige Lymphozytenansammlung beim Seminom.  
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin-Färbung, 600-fach

## **Semidünnschnitt-Histologie von Hodengewebes-proben bei Patienten mit Prostata-Carcinom**

Da das Hodengewebe bei Orchiektomien gewonnen werden konnte, die vor Einsetzen einer adjuvanten Hormontherapie durchgeführt wurden, war überwiegend eine gute Spermatogenese und ein unauffälliger Intertubulärer Raum ohne Lymphozyten feststellbar. In 29 von den 142 untersuchten Fällen gab es jedoch starke Veränderungen an den Hodenkanälchen bis hin zur Atrophie, die auch von fokaler Lymphozytenansammlung begleitet war. Die Spermatogenese war meistens reduziert und mit unterschiedlichen Phänomenen gealterter Zellen des Hodens behaftet. Vor allem die Sertoli-Zellen zeichneten sich durch eine teilweise sehr starke Beladung mit Lipidtropfen aus. Die Spermatoziden zeigten eine erhöhte Rate fehlgebildeter Zellen (Holstein 1987).

## **Immunhistochemie an Hodengewebsproben von Autopsien**

Immunhistochemische Darstellungen von Lymphozyten sollen eine methodische Ergänzung zur Identifikation von Lymphozyten sein.

Die Untersuchung dieser Gewebsproben von 106 Männern wurde durch zwei Bedingungen wesentlich beeinträchtigt. Erstens belastet die teilweise lange Liegezeit der Verstorbenen nach dem Tode und die dadurch eingetretene Autolyse des Gewebes den Erhaltungszustand des Hodengewebes und die sichere Identifikation und Lokalisation von Lymphozyten. Zweitens ist die Anamnese der Verstorbenen nur unvollständig bekannt. So ist z.B. bei den Drogentoten die Einwirkung exogener Noxen nicht mehr einschätzbar.

In den meisten Fällen lag ein Hodengewebe mit sehr heterogenem Zustand des Gewebes und der Spermatogenese vor.

In 33 Fällen konnte die Spermatogenese dominierend als gut bis sehr gut (modifizierter Score count A) bezeichnet werden. In diesen Hodengewebsproben fanden sich jedoch auch immer wieder Bereiche degenerierender Tubuli seminiferi („Tubulusschatten“). Bei 73 von 106 untersuchten Gewebsproben war die Spermatogenese als schlecht zu bezeichnen: in 32 Fällen war sie reduziert (modifizierter Score count B), in 26 Fällen nicht erfolgreich (modifizierter Score count C) und in 14 Fällen ließen sich gar keine Keimzellen mehr nachweisen (modifizierter Score count C).

Der Gewebserhaltungszustand war sehr heterogen, unabhängig von der zwischen Tod und Obduktion verstrichenen Zeit. Es war jedoch erkennbar, daß trotz einer mehr oder weniger starken Autolyse die Antigenität der Lymphozyten weitestgehend erhalten geblieben war.

Bezüglich des Vorkommens von Lymphozyten in den 106 untersuchten Fällen ließ sich nur in einem Hoden ein unauffälliger Intertubulärer Raum ohne das Vorkommen lymphozytärer Infiltrationen finden. Die Spermatogenese war hier reduziert. In allen anderen untersuchten Gewebsproben fanden sich Lymphozyten. Es handelte sich dabei dominierend um CD3-positive T-Lymphozyten, die sich in unterschiedlicher Anzahl und Verteilung im Intertubulären Raum nachweisen ließen (vgl. Tabelle 4).

Grundsätzlich ließen sich dabei zwei verschiedene Verteilungsmuster der Lymphozyten erkennen:

- 1. Fälle diffus verteilter freier Lymphozyten unterschiedlicher Anzahl**
- 2. Fälle von zusätzlichen fokalen Anhäufungen CD3- positiver T- Zellen.**

Die Zahl der disseminiert verteilten freien T-Lymphozyten beträgt bei 25 Männern dieser Gruppe 2,7 pro cm<sup>2</sup>. Dabei kann nicht ausgeschlossen werden, daß auch Lymphozyten in Blutkapillaren erfaßt wurden, die nicht frei im Intertubulären Raum liegen. Bei 19 Männern gibt es zwischen 2,7 und 13,3 Lymphozyten pro cm<sup>2</sup>. Bei 7 Männern ist die Lymphozytenzahl größer als 13 pro cm<sup>2</sup>. Hier liegt eine histologisch gut erkennbare Infiltration des Intertubulären Raums mit Lymphozyten vor (Abb. 13).

Besonders hervorzuheben ist eine Zunahme vereinzelter Lymphozyten im Bereich der Tunica vasculosa, degenerierender Hodenkanälchen und um Gefäße herum.

In Gebieten von Leydigzellhypertrophien konnte weder eine vermehrte Anzahl vereinzelter noch in Clustern angeordneter Lymphozyten festgestellt werden.

Clusterbildung von Lymphozyten im Intertubulären Raum des Hodens findet man meistens um Hodenkanälchen oder um Gefäße (hier besonders im perivaskulären Bereich der Tunica vasculosa, Abb. 14, 15).

Die Größe der Cluster kann sehr unterschiedlich sein, wobei erst ab einer Lymphozytenzahl von mehr als 10 von einem Cluster in dieser Arbeit gesprochen wird. Die Zellzahl übersteigt aber nicht selten mehr als 100.

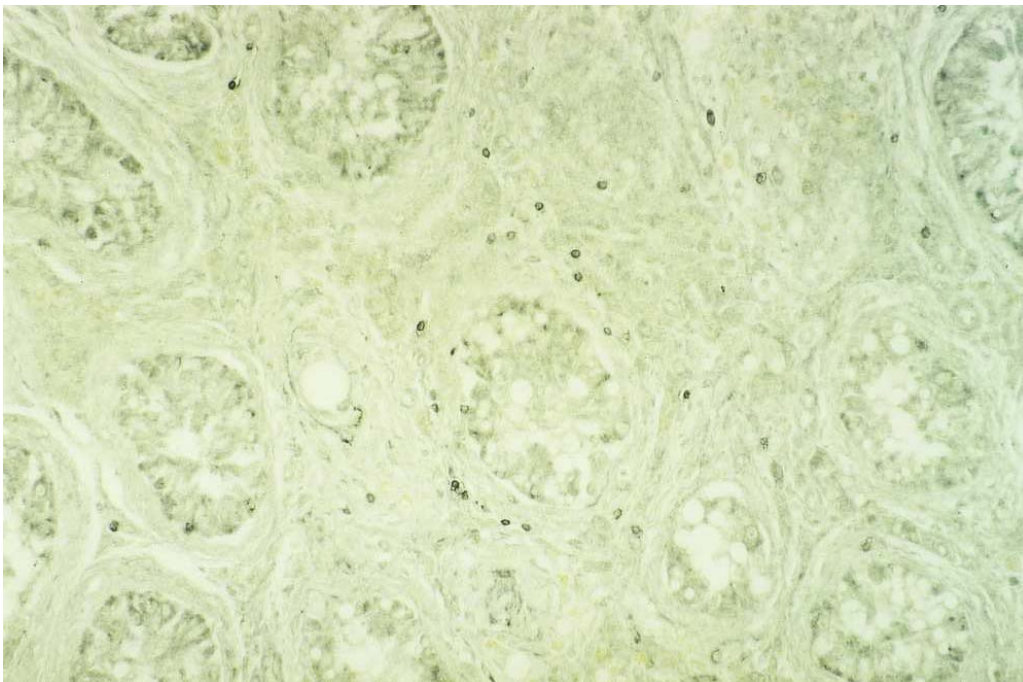
Die Cluster um Gefäße sind überwiegend organisiert, indem Bindegewebszellen zusammen mit den Lymphozyten Schalen um ein Blutgefäß bilden (Abb. 16). Die Blutgefäße sind Kapillaren oder Venolen. Arteriolen sind seltener betroffen. Die Blutgefäße sind sehr gut durch ihre Wandstrukturen unterscheidbar.

Die Cluster um Hodenkanälchen sehen meist wie Wolken aus (Abb. 17). Auch lassen sich einseitig an den Tubuli kappenförmige Lymphozytenansammlungen feststellen. Fast immer sieht man an dieser Stelle einen massiven Defekt der Spermatogenese im Keimepithel mit Degeneration der Keimzellen und Desorganisation des Keimepithels

(Abb. 18, 19). In besonders drastischen Fällen ist die Sertolizell-Barriere des Keimepithels durchbrochen und Makrophagen und Lymphozyten sind innerhalb des Hodenkanälchens anzutreffen (Abb. 20, 21, 22, 23).

B-Lymphozyten waren nur selten zu erkennen. Ihre Anzahl überstieg sehr selten eine Zahl von  $2,7 \times 10^{-4}$  Lymphozyten pro  $\mu\text{m}^2$ . In 10 Fällen konnten fokale Anhäufungen dieser CD20-positiven B-Zellen beobachtet werden (Abb. 24). Die Cluster erreichten jedoch selten so eine Zellzahldichte wie bei den T-Lymphozyten.

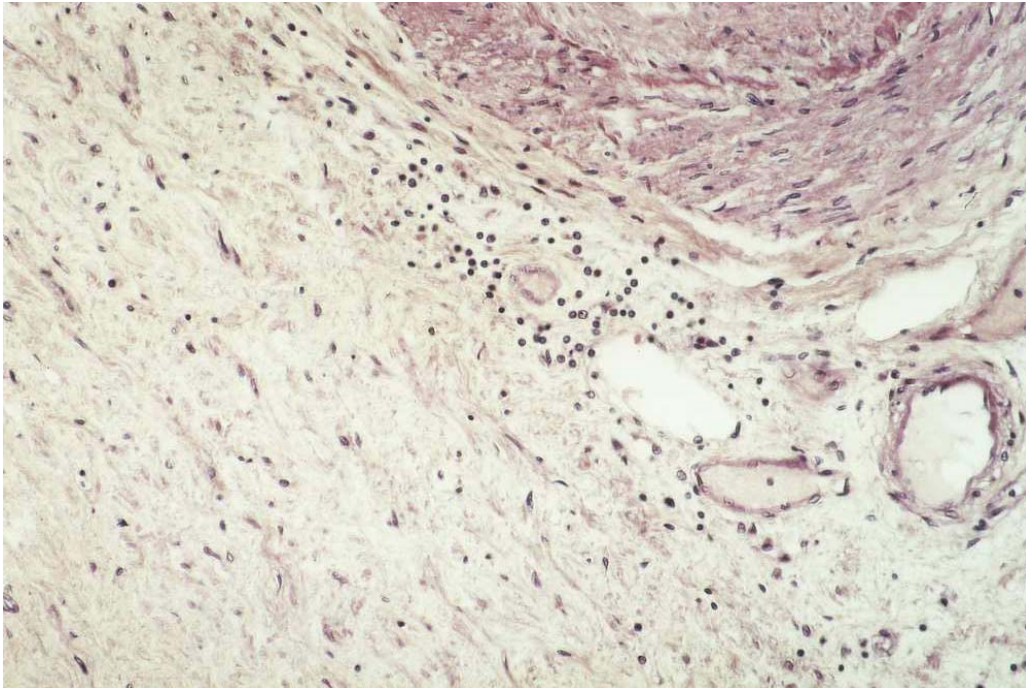
Über eine Verteilungsratio von T- zu B-Lymphozyten in den Clustern bleibt die Aussagemöglichkeit beschränkt.



**Abbildung 13:**

Vereinzelte T-Lymphozyten im stark erweiterten Intertubulären Raum bei partieller Tubulusatrophie.

41-jähriger Mann, Tod durch Herzversagen, keine erfolgreiche Spermatogenese  
Paraffinschnitt, CD3-T-Zell Antikörper, 250-fach



**Abbildung 14:**

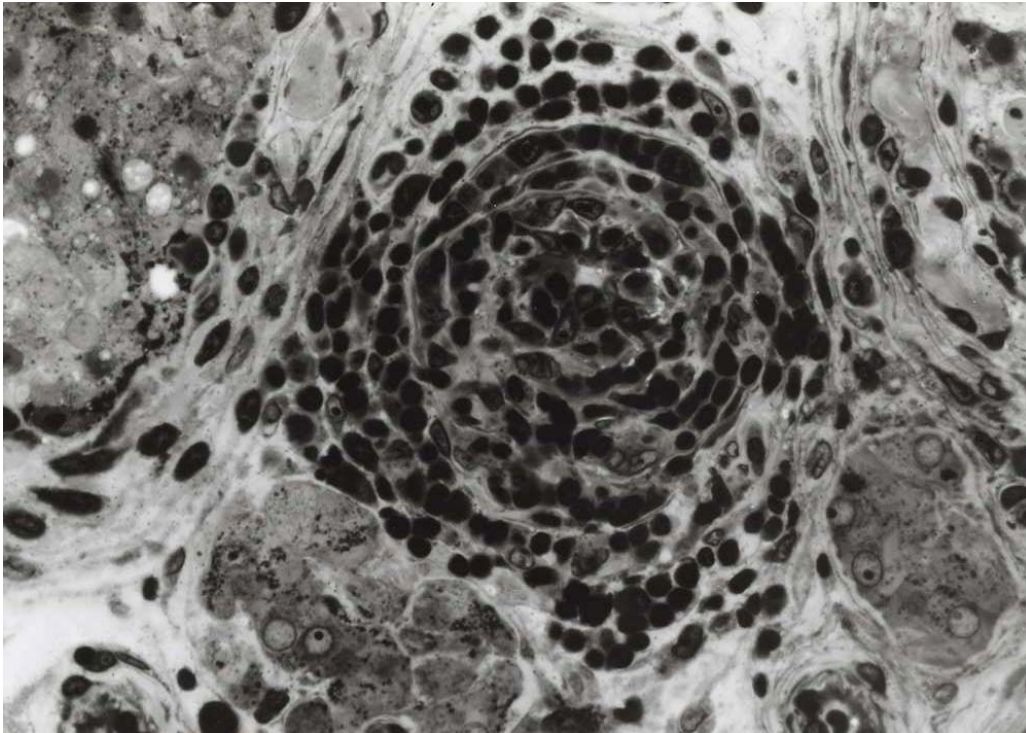
Ansammlung von Lymphozyten in der Tunica vasculosa der Tunica albuginea.  
75-jähriger Mann, Tod durch Herzversagen, sehr gute Spermatogenese  
Paraffinschnitt, H.E., 250-fach



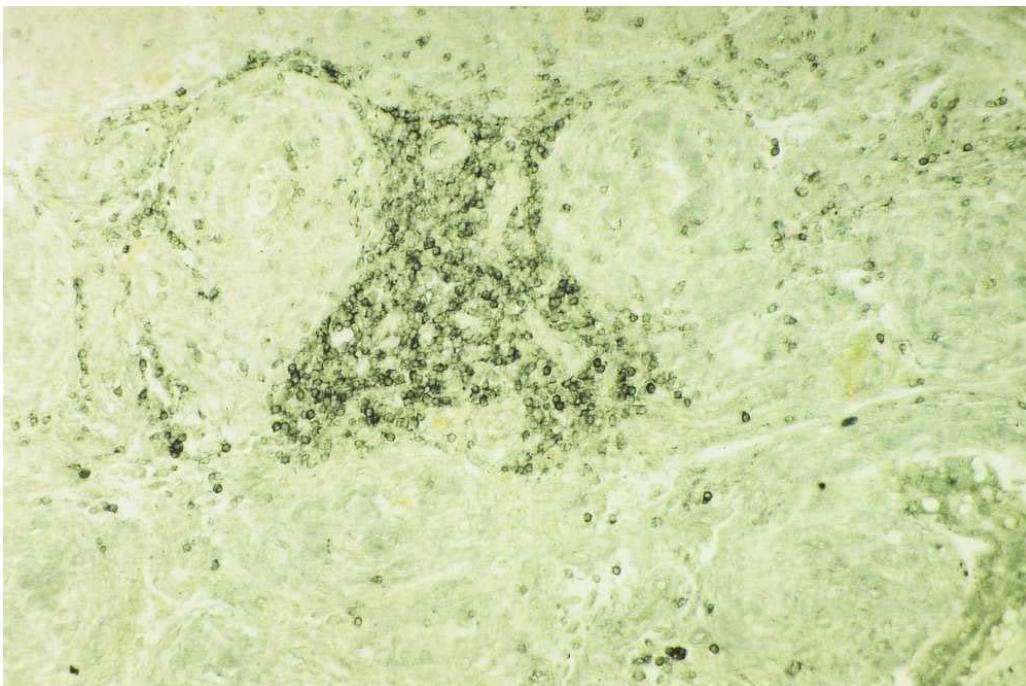
**Abbildung 15:**

Vereinzelte T-Lymphozyten in der Tunica vasculosa.  
CD3-T-Zell Antikörper, 75-jähriger Mann, Tod durch Herzversagen, sehr gute  
Spermatogenese  
Paraffinschnitt, 50-fach

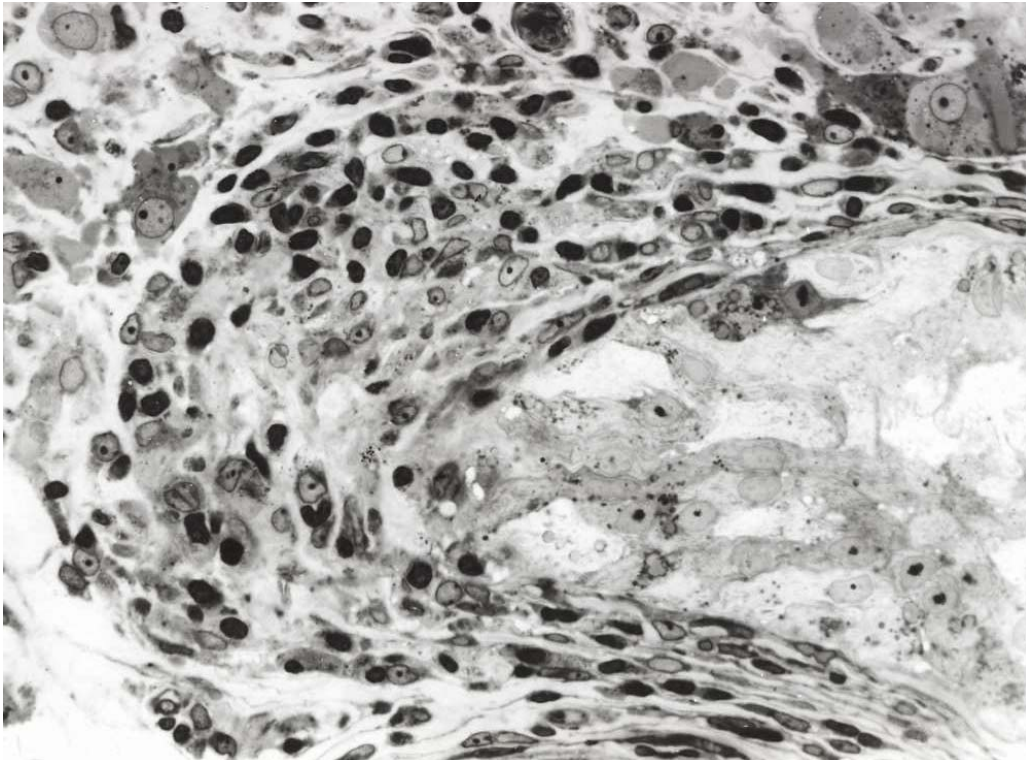




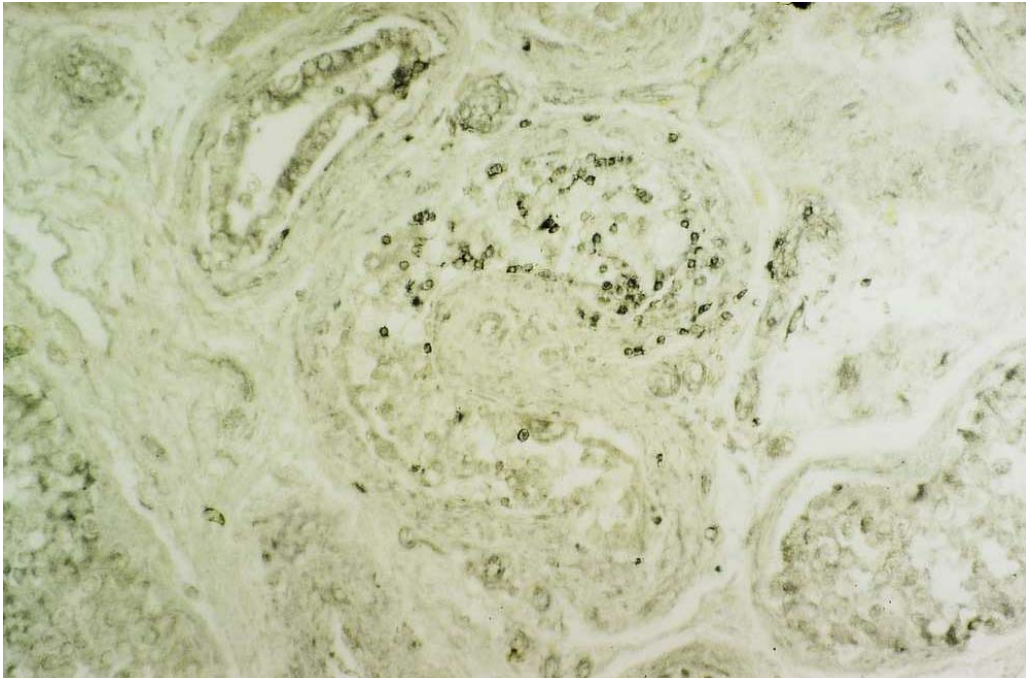
**Abbildung 16:**  
Schalenartige Anordnung von Lymphozyten um eine Arteriole im Intertubulären Raum.  
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin-Färbung, 600-fach



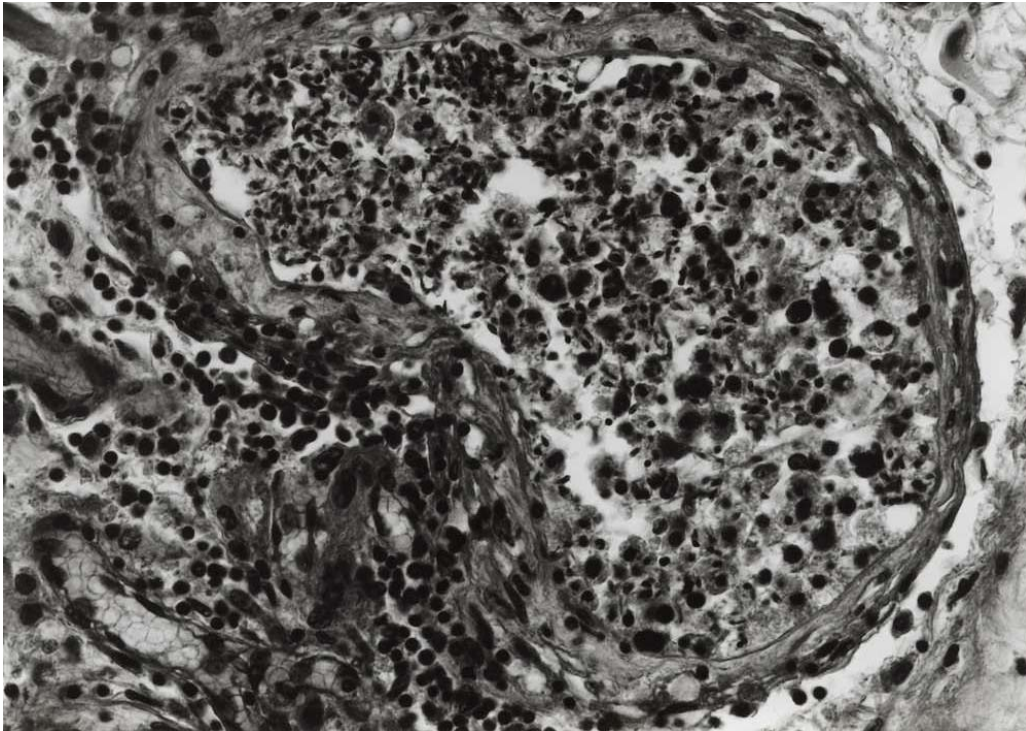
**Abbildung 17:**  
Ansammlungen von T-Lymphozyten.  
47-jähriger Mann, Tod durch Lungenembolie, keine Keimzellen  
Paraffinschnitt, CD3-T-Zell Antikörper, 50-fach



**Abbildung 18:** Degeneriertes Samenkanälchen mit kappenförmig angeordneten Lymphozyten.  
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin-Färbung, 300-fach

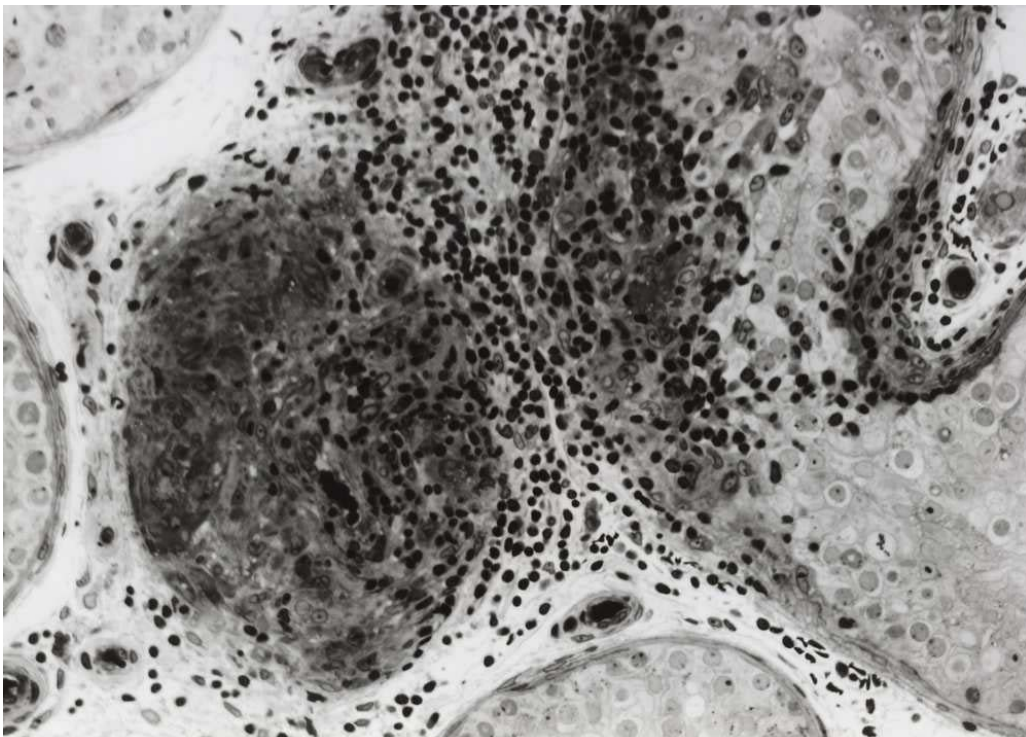


**Abbildung 19:**  
Lymphozyten in der Tunica albuginea von Hodenkanälchen bei Atrophie des Keimepithels.  
78-jähriger Mann, Tod durch rupturiertes Aortenaneurysma, keine Keimzellen  
nachweisbar  
Paraffinschnitt, H.-E., 250-fach



**Abbildung 20:**

Zerfallendes Hodenkanälchen mit Massen von Spermatozoen und eingewanderten Makrophagen. Massenhaft Lymphozyten in der Lamina propria und im benachbarten Intertubulären Raum. 36-jähriger Mann, Tod durch Drogenintoxikation, sehr gute Spermatogenese; H.E.-Färbung am Paraffinschnitt, 400-fach

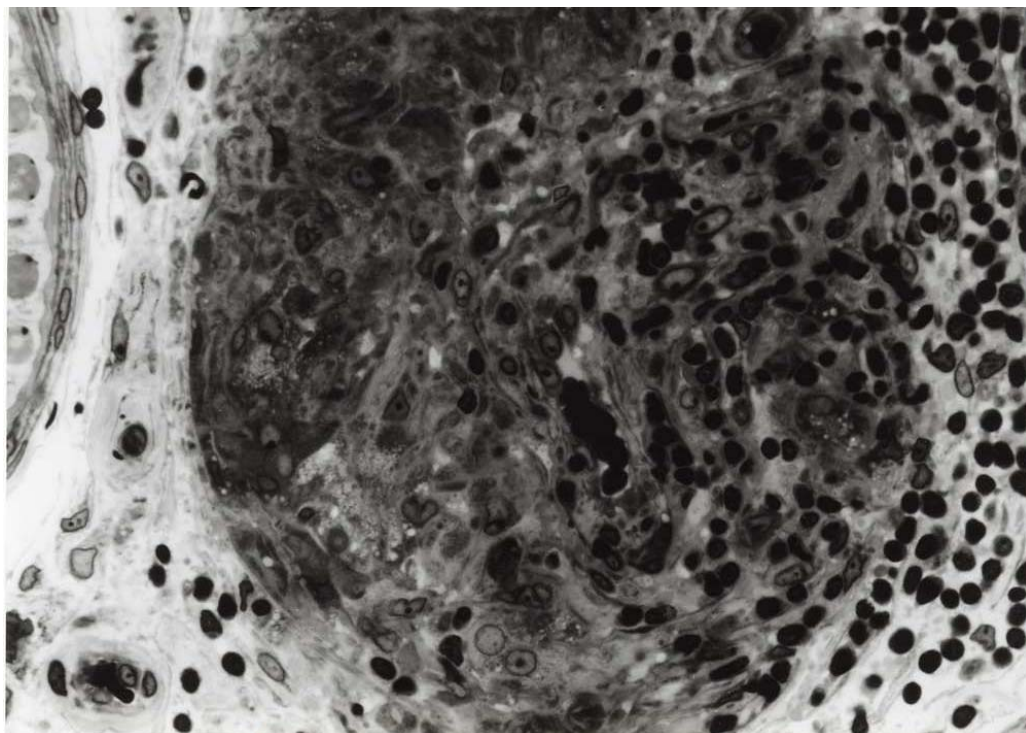


**Abbildung 21:**

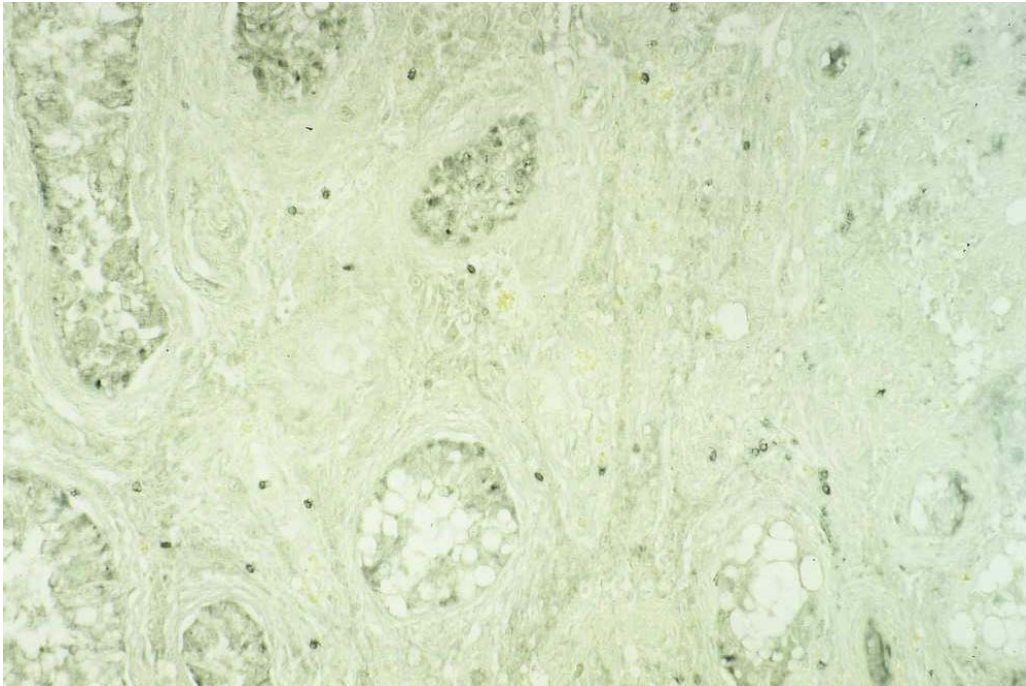
Infiltration von Lymphozyten in ein Hodenkanälchen mit gleichzeitiger Einwanderung von Makrophagen. Makrophagen haben auch Leydigzellen zusammen mit den Lymphozyten durchsetzt. Semidünnschnitt, Toluidinblau-Pyronin Färbung, 250-fach



**Abbildung 22:**  
Lymphozyten, Kapillare, Makrophagen zwischen Leydigzellen  
Höhere Vergrößerung (600-fach) von Abb. 21



**Abbildung 23:**  
Lymphozyten und Makrophagen haben ein Hodenkanälchen destruiert.  
Höhere Vergrößerung (600-fach) von Abb. 21



**Abbildung 24:**

Infiltration einiger weniger B-Lymphozyten im peritubulären Bereich eines degenerierenden Hodenkanälchens.

62-jähriger Mann, Tod durch Herzversagen, keine erfolgreiche Spermatogenese  
Paraffinschnitt, CD20-B-Zell Antikörper, 250-fach

Das Ergebnis immunhistochemisch untersuchter Hodengewebeproben von Autopsien kann in folgender Weise zusammengefaßt werden:

1. In dem Hoden von einem plötzlich zu Tode gekommenen Mann bestand reduzierte Spermatogenese ohne das Vorkommen von Lymphozyten im Intertubulären Raum.
2. In den Hoden von weiteren 33 plötzlich zu Tode gekommenen Männern mit guter bis sehr guter Spermatogenese fanden sich regelmäßig Bereiche degenerativer Tubuli seminiferi mit vereinzelt Lymphozyten.
3. In 105 von 106 untersuchten Hodengewebeproben fanden sich T-Lymphozyten unabhängig vom Spermatogenesebefund.
4. Die Lymphozyten lagen entweder in dissimulierter freier Form oder in clusterartigen Ansammlungen im Intertubulären Raum vor.
5. Vereinzelt Lymphozyten waren regelmäßig in Regionen von Leydigzellhyperplasien zu erkennen.
6. Die Clusterbildungen konzentrierten sich:
  - a) peritubulär um degenerierte Tubuli seminiferi
  - b) perivaskulär um kleinere intratestikuläre venöse Gefäße
  - c) perivaskulär um Gefäße der Tunica vasculosa
7. B-Lymphozyten waren in dissimuliert verteilter Form nur spärlich zu erkennen. In 10 Fällen zeigten sie eine clusterartige Anordnung.

## **Diskussion**

Im Hoden des Menschen gibt es bei intakter Spermatogenese und normalen Gewebsverhältnissen keine freien Lymphozyten im Intertubulären Raum oder in den Hodenkanälchen. Dieses Bild eines gesunden Organs konnte jedoch in den vorliegenden Untersuchungen nur dann gesehen werden, wenn Hoden ohne bekannte direkte krankhafte Organbeteiligung (z.B. bei Hydrozele, Ductusaplasie, kontralateraler Hoden bei einseitiger Tumorerkrankung) untersucht werden konnten. Die überwiegende Zahl der untersuchten Hodenproben stammte von Männern mit Fertilitätsstörungen oder anderen gravierenden Erkrankungen, bzw. Einflüssen exogener Noxen und zeigte mehr oder weniger viele Lymphozyten sowohl im Intertubulären Raum als auch gelegentlich in den Hodenkanälchen.

Um diese komplexe Situation im menschlichen Hoden zu erfassen, bedurfte es der Berücksichtigung unterschiedlicher Hodengewebsproben. So wurde Hodengewebe von Biopsien ausgewertet, die im Verlaufe einer Fertilitätsdiagnostik entnommen wurden. Hierbei gab es nur in den Fällen mit Verschlußazoospermie eine Chance, normale Spermatogenese und einen nicht alterierten Hoden zu sehen. Dann konnten zahlreiche Gewebsproben von Männern im fortgeschrittenen Lebensalter untersucht werden, die wegen eines Prostata-Carcinoms orchiektomiert wurden. Diese Hoden zeigten ausgeprägte Altersveränderungen vor allem in Form einer starken Lipidbeladung der Sertolizellen, boten jedoch in vielen Fällen noch das Bild einer guten Spermatogenese und wiesen dann auch keine freien Lymphozyten im Intertubulären Raum auf. Schließlich wurden Hoden von Männern untersucht, die aus unterschiedlichen Gründen plötzlich zu Tode gekommen waren. Hier gab es nur sehr wenige Fälle mit guter Spermatogenese und fehlenden Lymphozyten.

Die Auswahl der Hodenproben in den hier untersuchten Gruppen war nicht zu beeinflussen. Eine gewisse Präselektion war bei der einen Gruppe von Männern durch ihre Fertilitätsstörung bedingt, die im Rahmen einer Diagnostik zur Hodenbiopsie führte. Bei der anderen Gruppe von Männern wurde eine Orchiektomie als adjuvante Maßnahme bei der Therapie eines Prostata-Carcinoms durchgeführt. Die sehr heterogene Gruppe von plötzlichen, ungeklärten Todesfällen umfaßte Männer, deren

vermutlich überwiegend problematische Lebensschicksale auch erhebliche Einflüsse auf ihre Gesundheit und hier speziell auf die Gonaden hatten.

Dieser Befund bei den plötzlich verstorbenen Männern war völlig unerwartet. Er ist in dieser Form in der Literatur nicht bekannt. Wenn in Hodengewebeproben von 106 plötzlich aus unterschiedlichen Gründen zu Tode gekommener Männer in 105 Fällen freie Lymphozyten im Intertubulären Raum gefunden werden, ist Folgendes zu bedenken:

1. *Die Untersuchungsmethode war zu empfindlich.*

Das trifft nicht zu, da die Gewebeproben sowohl der Routine-Paraffinschnitt-Histologie als auch der Immunocytochemie unterzogen wurden und beide Methoden identische Ergebnisse im Nachweis von Lymphozyten brachten. Falsch-positive Ergebnisse durch evtl. Anfärbung von unspezifischen Strukturen konnten ausgeschlossen werden.

2. *Freie Lymphozyten sind ein normaler Bestandteil des Intertubulären Raums.*

Diese Annahme steht im Widerspruch zu einer in dieser Studie mitgeteilten ausreichenden Zahl von Fällen, bei denen keine freien Lymphozyten im Intertubulären Raum gefunden wurden. Es muß also doch als ein Spezifikum dieses Untersuchungsgutes betrachtet werden.

3. *Fast alle Männer dieser Untersuchungsgruppe hatten Hodenaffektionen.*

Allein wegen der sehr unterschiedlichen Todesursachen und unterschiedlichen Lebensalter ist diese Annahme unwahrscheinlich. Wenn auch Organe von Drogentoten dabei enthalten waren, bei denen eine latente Sepsis vermutet werden kann, gilt eine solche Vermutung für die meisten Fälle nicht. Hier wäre zu bedenken, ob eventuell postmortal Lymphozyten aus den Blutgefäßen ausgetreten sind und somit als freie Lymphozyten im Intertubulären Raum nachgewiesen wurden. Eine postmortale Migration von dazu befähigten Zellen wird z.B. für die Milz angenommen. Für den Hoden des Menschen wurden solche Vermutungen bisher nicht angestellt.



So ist diese Gruppe der plötzlich Verstorbenen hinsichtlich des Vorkommens von Lymphozyten im Intertubulären Raum nur mit Vorbehalt für eine Beurteilung lebensgerechter Bedingungen heranzuziehen.

Zusammengenommen betrachtet, ließ sich bei allen Untersuchungen der untersuchten Materialproben in einer je nach Material wechselnden Anzahl von Hodenproben eine gute Spermatogenese zusammen mit vereinzelt freien Lymphozyten im Intertubulären Raum feststellen. Dieses Bild unterstützt die unklaren Aussagen in der Literatur, wenn das Vorkommen von Lymphozyten im Hoden als strittig diskutiert wird (Pollanen et al. 1987, 1988; el-Demiry et al. 1985, 1987, 1988; Wilkins et al. 1989; Ritchie et al. 1984). Dieses unklare Bild ist aber offensichtlich sehr typisch für den menschlichen Hoden, der zwar ein prinzipiell reaktionsbereites Immunsystem besitzt, aber auch nach Form der Reaktionslage über ein Zellsystem verfügt, das der Aufrechterhaltung des Immunprivilegs dient.

Der Hoden des Menschen ist eines der wenigen Organe des menschlichen Körpers mit einem Immunprivileg (Head et al. 1983; Streilein 1993; Setchell et al. 1990). Als histologisches Zeichen dafür fehlen freie Lymphozyten im Intertubulären Raum (Fawcett & Burgos). Das Auftreten von Lymphozyten außerhalb der Blutgefäße muß als Gefährdung des Immunprivilegs angesehen werden (Suominen & Soderstrom 1982). Die Immunsuppression im Hoden gilt als eine Voraussetzung für den Erhalt der Spermatogenese (Maddocks 1990, el-Demiry 1988). Die Aufrechterhaltung des Immunprivilegs wird den Makrophagen und den Leydigzellen des Intertubulären Raums zugeschrieben (Pollanen 1990, Hedger 1997).

Die Makrophagen sind „resident macrophages“ und im histologischen Schnittpräparat nur schwer identifizierbar. Im Semidünnschnitt zeigen sie Lipideinschlüsse im Zytoplasma. Erst nach Anwendung immunocytochemischer Marker lassen sie sich aber zweifelsfrei erkennen. Ihre große Zahl ist dann überraschend.

Bei Fertilitätsstörungen, die mit erheblichen degenerativen Prozessen im Keimepithel der Tubuli seminiferi einhergehen, findet man eine weitere Gruppe von Makrophagen, die vermutlich zu den „immigrant macrophages“ gehören. Diese Makrophagen lassen im Semidünnschnitt vor allem multiple Zytoplasmafortsätze erkennen. Sie wandern

auch in die Hodenkanälchen ein und sind teilweise in größerer Zahl in den Lumina zu finden. Wenn sie in den Hodenkanälchen auf Spermatozoen treffen, phagozytieren sie diese in erheblichem Umfang (Phadke et al. 1974, Holstein 1978) und werden dann auch als Spermatophagen bezeichnet. Immunhistochemisch sind beide Makrophagentypen CD68 positiv, lassen sich also immunocytochemisch nicht unterscheiden.

Man hat das Vorkommen der Makrophagen im Hoden bisher nicht ausreichend erklären können. Teilweise vermutet man, daß sie über die Abgabe von Zytokinen Einfluß auf die Spermatogenese nehmen (Weinbauer et al. 1996, Cohen et al. 1999), teilweise betrachtet man sie als die Zellen, die aus den Blutgefäßen ausgetretene Lymphozyten phagozytieren und damit immunsuppressiv wirken. Eine Vermehrung der Zahl der Makrophagen im Intertubulären Raum bei schweren degenerativen Veränderungen des Keimepithels in den Hodenkanälchen kann als Zeichen einer Reparatur des Immunprivilegs gedeutet werden (Cope et al. 1999).

Während die „resident macrophages“ zur Ausstattung des Intertubulären Raumes gehören, bedeutet das Auftreten von „immigrant macrophages“ einen pathologischen Prozeß.

Die Leydigzellen haben in den letzten Jahren eine neue Bewertung erfahren (Davidoff et al. 1993). Nachdem sie zuvor nur als Produzenten des männlichen Geschlechtshormons Testosteron bekannt waren, weiß man jetzt, daß sie zugleich neuroendokrin aktive Zellen sind (Davidoff et al. 1996). Neben Androgenen produzieren die Leydigzellen des Menschen Katecholamine, Neuropeptide und Zytokine. Außerdem weisen sie auch eine Immunreaktivität für Gliazellmarker auf. Sie sind somit beteiligt an der Regulation der Steroidbildung und an der Durchblutung des Hodens, sie beeinflussen die Kontraktilität der Hodenkanälchen, sie regeln den Spermatozoentransport aus dem Hoden und kommunizieren mit den Sertolizellen zur Regulation der Keimzellentwicklung (Jégou et al. 1993). Man nimmt an, daß sie über die parakrine Sekretion von Zytokinen die Makrophagen stimulieren und somit in die Immunregulation im Intertubulären Raum eingreifen (Pollanen et al. 1990). Zusätzliche immunregulative Funktion wird den Leydigzellen durch die Expression des Proteins

CD106 zugeschrieben (Sainio-Pollanen et al. 1997), welches als Co-Stimulator der T-Lymphozyten-Migration angesehen wird.

Der Hoden hat offensichtlich große Probleme, sein Immunprivileg aufrecht zu erhalten. Er befindet sich in einer ständigen Auseinandersetzung mit einer drohenden Imbalance der Immunsituation. Auch bei intakter Spermatogenese sind in einigen Fällen vereinzelte Lymphozyten im Intertubulären Raum feststellbar. Die noch sehr gute Spermatogenese zeigt an, daß diese vereinzelt Lymphozyten die Immunsituation des Hodens offensichtlich nicht wesentlich beeinträchtigen. Disseminiert auftretende, vereinzelte Lymphozyten im Intertubulären Raum können somit nicht als ein Zeichen einer Spermatogenesestörung oder gar einer Tumorerkrankung angesehen werden.

Clusterbildungen von Lymphozyten im Hoden sind jedoch immer Zeichen einer schweren Störung des Immunprivilegs (Lauke et al. 1988). Hier hat sich dann eine Entzündung manifestiert. Diese kann in Form einer Assoziation zu einem Blutgefäß allergischer Natur sein oder als Endangitis auch evtl. bei Diabetes mellitus auftreten. Die Entzündung kann fleckig größere Areale des Hodens befallen haben und bietet damit Zeichen einer Orchitis (Hofmann & Kuwert 1979) oder zusammen mit zahlreichen Makrophagen das Bild einer granulomatösen Orchitis. Solche Erscheinungen sind auch als Begleiterkrankung bei einer Epididymitis bekannt.

Clusterbildungen von Lymphozyten können kappenartig Hodenkanälchen aufsitzen (Lauke et al. 1988) und sind dann Anzeichen einer defekten Immunbarriere der Sertolizellen. Die als Antigen wirkenden haploiden Keimzellen kommen offensichtlich in Kontakt mit dem Intertubulären Raum und lösen am Hodenkanälchen eine lokale Immunreaktion aus. Nicht selten findet sich dieser Befund im Rahmen einer Tumorerkrankung (Mostofi & Sesterhenn 1978, Jahnukainen et al. 1995).

Bemerkenswert ist, daß in allen Fällen, bei denen Lymphozyten im Intertubulären Raum gefunden wurden, fast ausschließlich T-Lymphozyten erkannt werden konnten. Die Ratio unterschiedlicher T-Subpopulationen zeigt keine signifikanten Unterschiede, die einem bestimmten Krankheitsbild zuzuordnen wären. B-Lymphozyten sind selten. Plasmazellen sind mit Ausnahme der Tumorfälle extrem selten. Dieser Befund wird als Zeichen eines nicht etablierten Immunsystems gewertet. T-Lymphozyten sind als

zytotoxisch tätige Zellen kurzfristig eingesetzt. B-Lymphozyten und die von ihnen abstammenden Plasmazellen sind Zeichen eines langfristigen immunologischen Abwehrprozesses. So sind B-Lymphozyten und Plasmazellen sehr häufig bei Hodentumoren zu finden (Thackray & Crane 1976, Caraway et al. 1995, Torres et al. 1997). Bei manchen Formen eines frühen Hodentumors dominieren B-Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen das histologische Bild.

Abschließend können für die Bewertung von Hodenbiopsien somit folgende aus dieser Untersuchung gewonnene Erkenntnisse berücksichtigt werden:

1. Im normalen Hodengewebe gibt es freie Lymphozyten weder in den Hodenkanälchen noch im Intertubulären Raum. Offensichtlich besteht eine doppelte Immunbarriere. Erstens schließt die Sertolizell-Barriere das adluminal Kompartiment des Keimepithels gegen das Eindringen von Lymphozyten ab. Die im adluminalen Kompartiment liegenden haploiden Keimzellen haben zwar Antigencharakter, werden darin aber nicht von den Lymphozyten erkannt. Zweitens gibt es im Intertubulären Raum Mechanismen, die das Immunprivileg des Hodens aufrechterhalten. Hierbei wirken die Endothelien der Blutgefäße, die Leydigzellen und Makrophagen zusammen.
2. Vereinzelt freie Lymphozyten im Intertubulären Raum bei intakter Spermatogenese sind Hinweis auf eine Immunreaktion, die jedoch mit keiner weiteren pathologischen Gewebsveränderung verbunden sein müssen und somit als gering bedeutsam eingestuft werden können. Das histologische Bild läßt die Deutung zu, daß ein Kampf um den Erhalt des Immunprivilegs besteht. Der Befund von Lymphozyten im Intertubulären Raum eines Hodens erfordert jedoch eine gründliche Abklärung an weiteren Gewebsproben oder weiteren Schnittpräparaten. Vor allem muß ein evtl. verborgener Tumorprozeß ausgeschlossen werden.
3. Zahlreiche freie Lymphozyten im Intertubulären Raum in dissimierter Verteilung oder in Form von Clustern sind Anzeichen einer Immunreaktion, die bei einer Orchitis zu beobachten ist, aber auch als Hinweis auf eine Tumorerkrankung gelten kann. Auch hier ist eine weitergehende histologische Diagnostik angezeigt, um an dem entnommenen Gewebe keinen malignen Prozeß zu übersehen.

## **Zusammenfassung**

Der Hoden des Menschen gilt als immunprivilegiertes Organ. Daraus wäre abzuleiten, daß freie Lymphozyten im Hodenparenchym nicht vorkommen. Kontroverse Mitteilungen in der Literatur geben jedoch Unsicherheit bei der histologischen Untersuchung von Hodengewebsproben im Rahmen einer Fertilitäts- oder Tumordiagnostik. Zur Klärung der Situation wurden in der vorliegenden Studie Hodengewebsproben von Männern mit unterschiedlichen Fertilitätsstörungen, von Männern mit Verdacht auf Hodentumor, von Männern mit Prostata-Carcinom und von Männern, die aus unbekannter Ursache plötzlich zu Tode gekommen waren (Autopsiematerial), untersucht.

Dabei ließ sich feststellen, daß in Hoden mit intakter Spermatogenese und ohne bekannte Organerkrankung Lymphozyten nicht vorkommen. Diese Situation konnte in nicht Tumorzellen enthaltenden kontralateralen Hoden bei einseitigem Hodentumor, bei Hoden mit Verschuß der ableitenden Samenwege und nur in einzelnen Fällen bei Männern mit Fertilitätsstörungen gefunden werden.

In allen anderen Fällen waren Lymphozyten in unterschiedlicher Organisationsform festzustellen:

1. Lymphozyten kommen disseminiert im Intertubulären Raum vor, es handelt sich überwiegend um T-Lymphozyten
2. Lymphozyten sitzen in kappenförmigen Clustern einzelnen Tubuli seminiferi auf, es handelt sich vorwiegend um T-Lymphozyten
3. Lymphozyten bilden lokale Cluster um Blutgefäße, die Zahl der T-Lymphozyten überwiegt, es gibt aber auch B-Lymphozyten
4. Lymphozyten füllen den Intertubulären Raum, T-Lymphozyten überwiegen, stellenweise gibt es aber auch massive Ansammlungen von B-Lymphozyten

Das disseminierte Auftreten von Lymphozyten ist oft mit schweren Störungen der Spermatogenese verbunden. Kappenförmige Lymphozytencluster auf Tubuli seminiferi sind an Stellen zu sehen, wo der Aufbau des Keimepithels schwer gestört ist und damit offensichtlich auch die Sertolizell-Barriere nicht mehr vorhanden ist. Damit können haploide Keimzellen als Antigen erkannt werden. Lymphozytencluster um Blutgefäße treten zwar bei gestörter Spermatogenese auf, lassen aber keine direkte Beziehung zur Keimzellentwicklung in anliegenden Hodenkanälchen erkennen. Es handelt sich um entzündliche gefäßbegleitende Prozesse. Massive Ansammlungen von Lymphozyten im Intertubulären Raum, auch in Verbindung mit einer stark vermehrten Zahl von Makrophagen, sind Zeichen einer Orchitis. Überraschend war die Feststellung, daß in 98% der Hoden plötzlich zu Tode gekommener Männer erhebliche Störungen der Spermatogenese und Lymphozyten in unterschiedlicher Verteilung im Intertubulären Raum gefunden wurden. Ursache dafür dürften Erkrankungen des Gesamtorganismus, oder langjähriger Drogenkonsum gewesen sein (z.B. Diabetes, Alkoholintoxikationen, Autoimmunerkrankungen, HIV-Infektion (Pudney et al. 1991)). Vorstellbar ist auch eine bisher nicht bekannte postmortale Evasion von Lymphozyten aus den Blutgefäßen in den intertubulären Raum des Hodens.

Für die histologische Bewertung von Hodenbiopsien lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Im normalen Hodengewebe eines fertilen, gesunden Mannes gibt es keine freien Lymphozyten im Intertubulären Raum.
2. Vereinzelte freie Lymphozyten im Intertubulären Raum bei intakter Spermatogenese sind zwar Hinweis auf eine Immunreaktion, die aber mit keiner erkennbaren pathologischen Gewebsreaktion verbunden sein müssen und somit als gering bedeutsam eingestuft werden können. Eine weitergehende Diagnostik ist empfehlenswert.
3. Zahlreiche Lymphozyten im Intertubulären Raum in disseminierter Verteilung oder in Form von Clustern sind Anzeichen einer Immunreaktion, die bei einer Orchitis auftritt, aber auch als Hinweis auf eine frühe Tumorerkrankung des Hodens gelten kann. Eine weitergehende Diagnostik ist notwendig.

## **Literaturverzeichnis**

- Barker CF, Billingham RE (1977)  
**Immunologically privileged sites.** Adv Immunol, 25: 1-54
- Behre HM, Yeung CH, Holstein AF, Weinbauer GF, Gassner P, Nieschlag E (2000)  
**Diagnosis of male infertility and hypogonadism.**  
In: Andrology, Male Reproductive Health and Dysfunction  
(E. Nieschlag, HM Behre, Hrsg.), S. 90-142
- Bell DA, Flotte TJ, Bhan AK (1987)  
**Immunohistochemical characterization of seminoma and its inflammatory cell infiltrate.**  
Hum Pathol 18:511-520
- Boeck P (1989)  
**Romeis. Mikroskopische Technik.**  
Urban und Schwarzenberg: München
- Bourne JA (1983)  
**Handbuch I / II der Immunperoxidase Färbemethoden.**  
Immunochemistry Laboratory DAKO Corporation
- Caraway NP, Fanning CV, Amato RJ, Sneige N (1995)  
**Fine-needle aspiration cytology of seminoma: a review of 16 cases.**  
Diagn Cytopathol 12: 327-333
- Cohen PE, Nishimura K, Zhu L, Pollard JW (1999)  
**Macrophages: important accessory cells for reproductive function.**  
J Leukoc Biol 66:765-772
- Cope NJ, McCullagh P, Sarsfield PT (1999)  
**Tumor responding accessory cells in testicular seminoma: an immunohistochemical study.**  
Histopathology 34: 510-516
- Davidoff MS, Schulze W, Middendorff R, Holstein AF (1993)  
**The Leydig cell of the human testis – a new member of the diffuse neuroendocrine system.**  
Cell Tissue Res 271: 429-439
- Davidoff MS, Middendorff R, Holstein AF (1996)  
**Dual nature of Leydig cells of the human testis.**  
Biomed Rev 6: 111-141

- DeKretser (1967)  
**The fine structure of the testicular interstitial cells in men of normal androgenic status.**  
Z. Zellforsch 80: 594
- DeKretser DM, Holstein AF (1976)  
**Testicular biopsy and abnormal germ cells.**  
In: Hafez ESE (Ed) Human semen and fertility regulation in men.  
Mosby, St. Louis, pp 332-342
- Dym M, Fawcett DW (1973)  
**The fine structure of monkey Sertoli cells and its role in maintaining the blood-testis barrier.**  
Anat Rec 175: 639-656
- El-Demiry MI, Hargreave TB, Busuttill A, James K, Ritchie AW, Chisholm GD (1985)  
**Lymphocyte sub-populations in the genital tract.**  
Br J Urol 57: 769-774
- El-Demiry M, Hargreave TB, Busuttill A, Elton R, James K, Chisholm GD (1987)  
**Immunocompetent cells in human testis in health and disease.**  
Fertil Steril 48: 470-490
- El-Demiry M, James K (1988)  
**Lymphocyte subsets and macrophages in the male genital tract in health and disease. A monoclonal antibody-based study.**  
Eur Urol 14: 226-235
- Fawcett DW, Burgos MH (1960)  
**Studies of the fine structure of the mammalian testis.**  
**The human interstitial tissue.**  
Am J Anat 107: 245
- Fawcett (1970)  
**Electron microscopic observations on the structural components of the blood-testis barrier.**  
J Reprod Fertil Suppl 10: 105
- Head JR, Neaves WD, Billingham RE (1983)  
**Immune privilege in the testis. I. Basic parameters of allograft survival.**  
Transplantation 36: 423-431
- Head JR, Billingham RE (1985)  
**Immune privilege in the testis. II. Evaluation of potential local factors.**  
Transplantation 40:269-275



- Head JR, Billingham RE (1985)  
**Immunologically privileged sites in transplantation immunology and oncology.**  
Perspect Biol Med 29:115-131
- Hedger MP (1997)  
**Testicular leukocytes: what are they doing?**  
Rev Reprod 2: 38-47
- Holash JA, Harik SI, Perry G, Stewart PA (1993)  
**Barrier properties of testis microvessels.**  
Proc Natl Acad Sci USA 90: 11069-11073
- Holstein AF (1978)  
**Spermatophagy in the seminiferous tubules and excurrent ducts of the testis in Rhesus monkey and in men.**  
Andrologia 10; 331-352
- Holstein AF, Schütte B, Becker H, Hartmann M (1987)  
**Morphology of normal and malignant germ cells.**  
Int J Androl 10: 1-18
- Holstein AF, Lauke H (1996)  
**Histologic diagnostics of early testicular germ-cell tumor.**  
Int J Urol 3: 165-172
- Hofmann N, Kuwert E (1979)  
**Chronic, nonpathogen-related orchitis.**  
Zhautkr 54: 173-180
- Itoh M, Chen XH, Takeuchi Y, Miki T (1995)  
**Morphological demonstration of the immune privilege in the testis using adjuvants: tissue responses of male reproductive organs in mice injected with Bordetella pertussigens.**  
Arch Histol Cytol 58: 575-579
- Itoh M, Moriyama H, Yano A, Li XQ, Takeuchi Y (1998)  
**Mode of migration of normal lymphocytes inside murine testis.**  
Anat Rec 25: 152-160
- Jahnukainen K, Jorgensen N, Pöllänen P, Giwercman A, Skakkebaek NE (1995)  
**Incidence of testicular mononuclear cell infiltrates in normal human males and in patients with germ cell neoplasia.**  
International Journal of Andrology 18: 313-320
- Jégou B, Sharpe RM (1993)  
**Paracrine mechanisms in testicular control.**  
In: DeKretser DM (Ed) Molecular Biology of the Male Reproductive System. Academic Press, San Diego, pp 271-310

- Lauke H, Dressler K, Hartmann M (1988)  
**Stromal response to testicular seminoma.**  
In: Holstein AF, Leidenberger F, Hölzer KH, Bettendorf G (eds.)  
Carl Schirren Symposium, Advanced in Andrology. Diesbach  
Berlin, pp 191-195
- Maddocks S, Parvinen M, Soder O, Punnonen J, Pollanen P (1990)  
**Regulation of the testis.**  
J Reprod Immunol 18: 33-50
- Mostofi FK, Sesterhenn I (1978)  
**Plenary lecture: lymphocytic infiltration in relationship to urologic tumors.**  
Natl Cancer Inst Monogr 49:133-141
- Nicholas RJ, Scothorne RJ (1969)  
**Studies on the testis as an ,immunologically privileged‘ site.**  
J Anat 104:194
- Ohata, M (1979)  
**Electron microscopic study on the testicular interstitial cells in the mouse**  
Arch Histol Jpn 42: 51-79
- Phadke AM (1975)  
**Spermiophage cells in man.**  
Fertil Steril 26: 760-774
- Pudney J, Anderson D (1991)  
**Orchitis and human immunodeficiency virus type 1 infected cells in reproductive tissues from men with the acquired immune deficiency syndrome.**  
American Journal of Pathology 139: 149-160
- Pollanen P, Niemi M (1987)  
**Immunohistochemical identification of macrophages, lymphoid cells and HLA antigens in the human testis.**  
Int J Androl 10: 37-42
- Pollanen P, Soder O, Uksila J (1988)  
**Testicular immunosuppressive proteins.**  
J Reprod Immunol 14: 125-138
- Pollanen P, Maddocks S. (1988)  
**Macrophages, lymphocytes and MHC II antigen in the ram an the rat testis.**  
J Reprod Fert 82: 437-445
- Pollanen P, von Euler M, Soder O (1990)  
**Testicular immunoregulatory factors.**  
J Reprod Immunol 18: 51-76

- Pollanen P, Uksila J (1990)  
**Activation of the immune system in the testis.**  
J Reprod Immunol 18: 77-87
- Ritchie AW, Hargreave TB, James K, Chisholm GD (1984)  
**Intra-epithelial lymphocytes in the normal epididymis.  
A mechanism for tolerance to sperm auto-antigens?**  
Br J Urol 56: 79-83
- Roosen-Runge, E. C., Holstein, A. F.  
**The human rete testis**  
Cell Tissue Res 189/3: 409-33
- Sainio-Pollanen S, Sundstrom J, Erkkila, Hanninen A, Vainiopaa M, Martikainen M, Salminen E, Verajankorva E, Antola H, Nikula H, Simell O, Pollanen P (1997)  
**CD106 (VCAM-1) in testicular immunoregulation.**  
J Reprod Immunol 33: 221-238
- Schütte B, Holstein AF, Schulze C, Schirren C (1981)  
**Zur Problematik der Früherkennung eines Seminoms. Nachweis von Tumorzellen in der Biopsie aus den Hoden von 5 Patienten mit Oligozoospermie.**  
Andrologia 13: 521-536
- Schütte B, Holstein AF, Schirren C (1988)  
**Macrophages lysing seminoma cells in patients with carcinoma-in-situ (CIS) of the testis.**  
Andrologia 20: 295-303
- Setchell BP, Uksila J, Maddocks S, Pollanen P (1990)  
**Testis physiology relevant to immunoregulation.**  
J Reprod Immunol 18: 19-32
- Streilein JW (1993)  
**Immune privilege as the result of local tissue barriers and immunosuppressive microenvironments.**  
Curr Opin Immunol 5: 428-432
- Suominen J, Soderstrom KO (1982)  
**Lymphocyte infiltration in human testicular biopsies.**  
Int J Androl 5: 461-466
- Thackray AC, Crane WAJ (1976)  
**Seminoma.**  
In: Pugh RCB (ed.) Pathology of the testis.  
Blackwell, Oxford, pp 164-198

Torres A, Casanova JF, Nistal M, Regadera J (1997)

**Quantification of immunocompetent cells in testicular germ cell tumors.**  
Histopathology 30:23-30

Weinbauer GF, Gromoll J, Simoni M, Nieschlag R (1996)

**Physiologie der Hodenfunktion.**

In: Andrologie, Grundlagen und Klinik der reproduktiven Gesundheit des Mannes.(Nieschlag E, Behre HM, Herausgeber), Springer: Berlin, Heidelberg, New York, pp 29-61

Wilkins BS, Williamson JM, O'Brien CJ (1989)

**Morphological and immunohistological study of testicular lymphomas.**  
Histopathology 15: 147-156

Whitmore WF, Gittes RF (1977)

**Studies on the prostate and testis as immunologically privileged sites.**  
Cancer Treat Rep 61: 217-222

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. A.F. Holstein danke ich für die Überlassung des Themas, die zahlreichen hilfreichen Anregungen und die Betreuung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Außerdem danke ich Herrn Prof. Dr. med. Davidoff für die stetige Bereitschaft zur Diskussion.

Herrn Prof. Püschel, Leiter des Instituts für Rechtsmedizin, danke ich für vielfachen Hilfen bei der Zuordnung des Gewebes zu den Daten der Patienten.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau Salewski, Frau Köhler und Frau Knies danke ich für die Einweisung und Begleitung bei der Durchführung der praktischen Arbeit im Labor.

Besonderer Dank gilt meinem Bruder Thomas Kagel für die große Hilfe bei der graphischen Gestaltung.

## **Lebenslauf**

Name: Annette Kagel  
Geboren: 28.08.1973 in Greifswald  
Eltern: Inge Kagel, geb. Köpsel  
Prof. Dr. med. Karl Otto Kagel

### **Schulbildung:**

1980-1988: Polytechnische Oberschule (E.-M. Arndt) in Greifswald  
1988-1989: Gymnasium Katharineum in Lübeck  
1992: 6monatiger Schulbesuch im Lycée Louis Majorelle in Toul, Frankreich  
1989-1994: Gymnasium Beisenkamp in Hamm mit dem Abschluß der allgemeinen Hochschulreife

### **Studium:**

1994 - 2001: Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg  
1996: Ärztliche Vorprüfung  
1997: Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2000: Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2001: Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### Praktisches Jahr:

- I. Thorax- und Abdominalchirurgie, Hôpital universitaire de l'Archet, Nizza (Frankreich)
- II. Gynäkologie, Albertinen-Krankenhaus Hamburg
- III. Gastroenterologie, Albertinen-Krankenhaus Hamburg  
Cardiologie, Hôpital Pasteur, Nizza (Frankreich)

Seit August 2001: Arzt im Praktikum (AIP):  
6 Monate im Bereich Notfallmedizin, Centre hospitalier les Broussailles, Cannes Frankreich

Seit Februar 2002: Neurologie am Centre universitaire Pasteur, Nizza, Frankreich

## **Erklärung**

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als mir die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Annette Kagel