

Aus dem Pathologischen Institut der Humboldt-Universität Berlin,  
dem Rudolf Virchow-Haus der Charité (Direktor: Prof. Dr. L. H. KETTLER)

## Untersuchungen über die Mitochondrienzahl in den Lebern von Hungermäusen

Von

HEINZ DAVID

(Eingegangen am 1. Februar 1957)

Genaue Untersuchungen über die Zahl der Lebermitochondrien wurden seit 1952 besonders von zwei Forschergruppen durchgeführt, und zwar von ALLARD, MATHIEU, DE LAMIRANDE und CANTERO sowie von SHELTON, SCHNEIDER und STRIEBICH.

ALLARD und Mitarbeiter untersuchten die Mitochondrien der Rattenleber, indem sie durch Partialzentrifugierung die Mitochondrien in drei getrennten Fraktionen bestimmten. Für die normale Rattenleber fanden sie je Gramm 31,84 bis  $34,18 \times 10^{10}$  Mitochondrien = 2500 je Zelle (berechnet auf einkernige Zellen). In Tumorgewebe wurden 1400, in präcancerösem Gewebe 1700 Mitochondrien je Zelle gezählt. Nach partieller Hepatektomie fanden sich  $22,8\text{—}28,6 \times 10^{10}$  Mitochondrien je Gramm Lebergewebe. SHELTON und Mitarbeiter zählten die Lebermitochondrien von Mäusen nach Homogenisation des Lebergewebes. Sie fanden bei Basaldiät  $12 \times 10^{10}$  Mitochondrien je Gramm (bei einer Kernzahl von  $229 \times 10^6$  = 558 Mitochondrien je Zelle), bei Fütterung des nicht carcinogenen 2-Methyl-DAB  $30,2 \times 10^{10}$  (Kernzahl  $192 \times 10^6$  = 1570 Mitochondrien je Kern) und bei Gabe des carcinogenen 3-Methyl-DAB  $7,1 \times 10^{10}$  Mitochondrien (Kernzahl  $559 \times 10^6$  = 115 Mitochondrien je Zelle). ALLARD u. a. schreiben jedoch, daß diese Substanz eine Zellabnahme bewirke, so daß die Mitochondrienzahl von normal 2500 auf 4500 ansteige. In anderen Arbeiten geben SHELTON und Mitarbeiter eine Zahl von  $8,7 \times 10^{10}$  Mitochondrien je Gramm Homogenisat an. EULER beobachtete  $5,1 \times 10^{10}$  Mitochondrien je Gramm Frischleber, während HOGEBOOM u. a.  $110 \times 10^{10}$  Mitochondrien für 1 g Lebergewebe angeben.

Die wenigen Angaben über die quantitativen Veränderungen der Mitochondrien bei Hunger wurden von ALLARD und Mitarbeitern gemacht. Sie schreiben, daß nach 6 Tagen Hunger die Mitochondrienzahl in der Rattenleber bedeutend ansteige, bei der Gabe einer semisynthetischen Diät dagegen abnehme. Da größere Untersuchungsreihen über den Ablauf der Mitochondrienzahlveränderungen im Hunger, soweit wir es wissen, noch nicht vorliegen, haben wir versucht, diese Frage näher zu erforschen.

### Methode.

Die Versuche wurden mit insgesamt 103 weißen, männlichen Mäusen durchgeführt. Ein Teil der Tiere diente zur Kontrolle, während die anderen nach 24, 48, 72 und 96 Std absoluten Hungers immer morgens getötet wurden. Die Lebern der Tiere wurden nach Dekapitation vollständig entnommen, in eiskalter physiologischer NaCl-Lösung gespült und sodann zwischen Filtrierpapier getrocknet.

Danach wurden zu je einem Teil Leber 9 Teile der eiskalten Kochsalzlösung (0,9%) gegeben, so daß eine 10%ige Lösung entstand (die Verdünnung mit verschiedenenprozentiger — 0,25 m, 0,88 m, 1,88 m — Rohrzuckerlösung, wie sie vor allem im amerikanischen Schrifttum angegeben ist, erwies sich im Hinblick auf die Verklumpung der Kerne als nicht günstig). Das Gemisch wurde mit Glasperlen in einer Flasche 20 min geschüttelt, um so ein Vorhomogenisat zu erzielen. Etwa 5 ml dieses Vorhomogenisates wurden in einem hochopturigen Homogenisator 150 sec homogenisiert. Alle Arbeitsvorgänge wurden bei möglichst niedrigen Temperaturen ausgeführt.

a) Aus dem Vorhomogenisat wurde wiederum eine 10%ige Lösung mit 0,9%iger NaCl-Lösung hergestellt, so daß jetzt eine 1%ige Stammlösung vorhanden war. Diese Lösung wurde mit der gleichen Menge einer Farblösung, die aus 80 mg Krystallviolett in 100 ml 6%iger Essigsäure (nach YOKOYAMA u. a.) besteht, gemischt. Die *Zählung der Kerne* erfolgte in einer Thoma-Erythrocytenzählkammer. Die Kammer wurde 3mal gefüllt, und jedesmal sämtliche Quadrate ausgezählt.

b) Aus dem Homogenisat wurde ebenfalls eine Lösung hergestellt, die 1% Lebergewebe enthielt. Die weitere Verdünnung auf 1:100 dieser Lösung wurde in einer Erythrocytenpipette ausgeführt. Die *Zählung der Mitochondrien* erfolgte wiederum in einer Zählkammer nach THOMA, und zwar unter dem Phasenkontrastmikroskop (Obj. 90  $\times$  Ölimmers., 1,25 num. Apert., Okular 10 $\times$ ). Hierbei ergaben sich mehrere Schwierigkeiten: 1. Um ein scharfes Bild zu erhalten, erwiesen sich die geschliffenen Deckgläser als zu dick. Sie mußten durch einfache ersetzt werden. 2. Als weitere Störung war die Brownsche Bewegung der Partikel zu beobachten, die auch in der Literatur mehrfach beschrieben ist. Da nach ALLARD, DE LAMIRANDE und CANTERO der Versuch der chemischen Sedimentation sich als nicht erfolgreich erwies (wir selbst versuchten nur die Vitalfärbung der Mitochondrien, die wir jedoch bald verließen, da die Partikel untereinander verklumpten), arbeiteten wir in dieser Richtung nicht weiter. Da aber nach Angabe derselben Autoren und nach Eigenbeobachtungen die Brownsche Bewegung in der ersten Minute nach Füllung der Kammern sehr stark ist, d. h. bei eintretender Erwärmung, wärmten wir die Pipette mit der Lösung vor Gebrauch in der Hand auf Zimmerwärme an. Jetzt war die Bewegung geringer und bestand nur noch in einem Vibrieren. Die Mitochondrien erschienen als etwa 1  $\mu$  große, dunkle Kugeln, die sich von den größeren Fetttröpfchen unterschieden. 3. Das größte Problem war jedoch, daß die Mitochondrien freischwebend in dem 0,1 mm hohen Raum zwischen Boden und Deckglas verteilt waren. Eine Zählung war nur durch langsames Hochschrauben der Millimeterschraube möglich, was an sich nicht schwierig ist, aber in einem Punkt einiger Übung bedurfte, als während eines Teils der Zeit die Quadrateinteilung nur schemenhaft sichtbar war. Eine visuelle Fixierung des Zellquadrates ist jedoch für diese Zeit möglich, besonders da die Zahl der Mitochondrien mit etwa 5—11 je Quadrat ziemlich gering ist. Die Kammern wurden 3mal gefüllt und jeweils 20 Quadrate ausgezählt bis zu einer Gesamtzahl von etwa 450—550 Mitochondrien.

### Ergebnisse<sup>1</sup>

*Normaltiere* (21 Tiere). Wir konnten mit unserer Methode eine durchschnittliche Zellzahl von  $189 \times 10^6$  ( $\sigma = \pm 9,9 \times 10^6$ ) je Gramm Leber feststellen. Hierbei ist zu sagen, daß wir uns an die in der Literatur übliche Annahme halten, daß die Lebern nur einkernige Zellen besäßen,

<sup>1</sup> Die tabellarischen Übersichten der Ergebnisse sind im Pathologischen Institut der Humboldt-Universität einzusehen.

wobei wir uns der Tatsache bewußt sind, daß damit eine *nicht unbedeutende Fehlerquelle* auftritt. Wir setzen also *Leberkern = Leberzelle*. Die Schwankungen der Zellzahl nach beiden Seiten sind erheblich. Die Zahl der Mitochondrien je Gramm frisches Lebergewebe beträgt  $30,83 \times 10^{10}$  ( $\sigma = \pm 1,1 \times 10^{10}$ ). Im allgemeinen zeigte sich, daß die hohe oder niedrige Zellzahl nicht mit einer parallelen Verschiebung der Mitochondrienzahl je Gramm einherging. Die Berechnung der Anzahl der Mitochondrien je Leberzellkern ergab einen Durchschnittswert von 1630 ( $\sigma = \pm 70$ ). Hierbei war in der Leber mit der niedrigsten Zellzahl zugleich mit 1820 die höchste Anzahl zu finden, so daß anzunehmen ist, daß in der normalen Leber eine bestimmte Mindestzahl gewährleistet sein muß, um alle Funktionen ablaufen zu lassen. Lebern mit einer Zellzahl von über  $200 \times 10^6$  zeigten dagegen mit 1450 oder 1490 Mitochondrien je Kern die kleinste Anzahl.

*24 Std Hunger* (20 Tiere). Nach eintägigem Hungern betrug die Gewichtsabnahme der Tiere durchschnittlich 15%. Es gab aber auch Tiere, bei denen kein Gewichtsverlust auftrat, während andere in der gleichen Zeit 26% ihres Gewichtes einbüßten. Auffällig ist schon hier, wie auch bei längerem Hungern, daß *Höhe des Gewichtsverlustes und Zell- sowie Mitochondrienzahlveränderungen nicht parallel gehen*. Die Zellzahl betrug  $197 \times 10^6$  ( $\sigma = \pm 8,4 \times 10^6$ ).

Für sämtliche weiteren statistischen Berechnungen wurde folgender Weg eingeschlagen (MURALT):

Aus den Einzelergebnissen jeder Beobachtungsklasse wird der mittlere Fehler

$$\text{„}m\text{“ ermittelt: } m = \pm \sqrt{\frac{[ll] - \frac{[l]^2}{n}}{n-1}}$$

Hieraus ergibt sich bei  $n$  Messungen der mittlere Fehler des Mittelwertes „ $M$ “:

$$M = \pm \frac{m}{\sqrt{n}}.$$

$M$  = zu einer ganzen Zahl aufgerundeter Mittelwert

$l$  = Abweichung von  $M$

$ll$  = Quadrat der Abweichung von  $M$

$n$  = Zahl der Untersuchungen

Um jeweils zwei Reihen miteinander vergleichen zu können, wird für beide „ $m$ “ und „ $M$ “ ermittelt.  $D$  ist die Differenz der ausgeglichenen Mittelwerte beider Reihen. Der mittlere Fehler  $\varepsilon(D)$  dieser Differenz wird folgendermaßen berechnet:

$$\varepsilon(D) = \pm \sqrt{M_1^2 + M_2^2}$$

Um festzustellen, ob ein Unterschied vorhanden ist, wird der Quotient  $\frac{D}{\varepsilon(D)}$  gebildet; ist dieser  $< 2$ , besteht kein Unterschied,  $\geq 2$  aber  $< 3$ , ist der Unterschied wahrscheinlich,  $> 3$ , ist ein sicherer Unterschied nachweisbar.

In bezug auf die Normaltiere erwiesen sich die Zellzahlen der Tiere nach eintägigem Hungern zwar als wahrscheinlich unterschiedlich, jedoch

nicht als signifikant; ein Ergebnis, das ja bei der kurzen Hungerdauer nicht anders zu erwarten war. Die Erhöhung der Mitochondrienzahl auf  $32,86 \times 10^{10}$  ( $\sigma = \pm 0,75 \times 10^{10}$ ) war dagegen eindeutig. Die Zahl der Mitochondrien je Zelle ist mit 1670 ( $\sigma = \pm 70$ ) wiederum statistisch nicht vollständig gesichert. Auch hier fanden wir bei einer hohen Zellzahl die niedrigsten Mitochondrienwerte (1580), während bei der Zellzahl von  $178 \times 10^6$  je Zelle 1830 Mitochondrien zu finden waren.

*48 Std Hunger* (21 Tiere). Die durchschnittliche Gewichtsabnahme betrug jetzt 25% mit einem Höchstwert von 41%. Gleichzeitig war kein Anstieg der Zellzahl gegenüber den Tieren, die 24 Std gehungert hatten, zu beobachten [ $196 \times 10^6$  ( $\sigma = \pm 5,3 \times 10^6$ )]. Dagegen war die Mitochondrienzahl mit  $34,96 \times 10^{10}$  ( $\sigma = \pm 1,06 \times 10^{10}$ ) je Gramm eindeutig erhöht und zeigte die höchsten Werte, die bei dem Versuch überhaupt gefunden wurden. Das Tier mit dem höchsten Gewichtsverlust hatte die geringste Mitochondrienzahl je Gramm. Gleichfalls ergaben sich für die Zahl der Mitochondrien in der Einzelzelle Höchstwerte. Wir sahen als Medianwert 1780 ( $\sigma = \pm 60$ ).

*72 Std Hunger* (21 Tiere). Nach dreitägigem Hunger erreichte die Gewichtsabnahme 30%. Ein Tier büßte sogar 45% seines Ausgangsgewichtes ein. Bei der Zellzahl trat ein rapider Anstieg auf  $210 \times 10^6$  ( $\sigma = \pm 8,8 \times 10^6$ ) ein. Die höchste Zahl betrug  $227 \times 10^6$ . Gleichzeitig sank die Mitochondrienzahl erheblich ab. Sie lag jetzt unter den Werten für Normaltiere und betrug  $29,51 \times 10^{10}$  ( $\sigma = \pm 1,35 \times 10^{10}$ ). Auch hier gingen höchste Gewichtsabnahme und geringste Mitochondrienzahl parallel. Es ergab sich eine durchschnittliche Mitochondrienmenge je Zelle von 1400 ( $\sigma = \pm 60$ ).

*96 Std Hunger* (20 Tiere). Die Gewichtssenkung ist jetzt nicht größer als bei den Tieren der vorigen Gruppe. Die Zellzahl dagegen stieg weiter an auf  $226 \times 10^6$  ( $\sigma = \pm 6 \times 10^6$ ), während die Mitochondrienzahl noch mehr absank. Der Medianwert lag bei  $28,01 \times 10^{10}$  ( $\sigma = \pm 0,92 \times 10^{10}$ ). Beziehungen zum Gewichtsverlust ließen sich nicht herstellen. Die Mitochondrienzahl je Zelle betrug 1210 ( $\sigma = \mp 35$ ). Bei dem Tier mit dem geringsten Gewichtsverlust und niedrigen Zellzahlen sowie hohen Mitochondrienwerten je Gramm ließ sich mit 1290 die höchste Zahl feststellen.

### Diskussion

Vorerst möchte ich kurz zu der Frage Stellung nehmen, die die Doppelkernigkeit der Leberzellen im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen berührt. Auch ALTMANN äußert sich kritisch zu der von uns und anderen angewandten Methodik, indem er fordert, daß die Zweikernigkeit und die verschiedenen Kerngrößenklassen berücksichtigt werden müssen. Auf Grund der geringen Materialmenge, die sich aus der Mausleber ergibt, ist eine Untersuchung der Mitochondrienzahl und

der Doppelkernigkeit gleichzeitig nicht möglich. Die Ergebnisse in der Literatur schwanken aber gerade bei der Zahl der binucleären Leberzellen der Normaltiere erheblich und wurden meist nur an wenigen Tieren festgestellt (ARAPOW — Maus: 20%, MÜNZER — Mensch: 10%, bei Anwendung der Pfuhschen Formel 27%, CLARA — Mensch: 10%, BÖHM — Mensch: 27%, MÜLLER — Maus: 7—39%, SULKIN — Ratte: 11,7%, SIESS und STEGMANN — Maus: 10—40%, BUCHER und GLINOS — Ratte: 21—25%, ST. AUBIN und BUCHER — Ratte: 30—35%). Nehmen wir für die weiße Maus 20% doppelkernige Zellen als Durchschnittswert an, so würde für unsere Normaltiere die Zellzahl auf  $157,5 \times 10^6$  sinken, die Mitochondrienzahl je Zelle auf 1970 steigen. Da als sicher anzunehmen ist, daß die doppelkernigen Zellen mehr Mitochondrien enthalten werden als die einkernigen, ist die Errechnung des Durchschnittswertes auch nicht als richtig anzusehen. Andererseits wird es sich ja auch nicht um eine einfache Verdoppelung der Mitochondrienzahl in den binucleären Zellen handeln. Aus diesem Grunde, und weil wir die Veränderungen im weiteren Verlauf des Hungers nicht kennen, die Aussagen in der Literatur aber spärlich und widersprechend sind, also ein Vergleich nicht möglich ist, sehen wir uns gezwungen, die Mitochondrien vorläufig je Kern = Zelle zu berechnen.

Während der ersten 48 Hungerstunden kommt es zu einer Zellvermehrung von geringem Ausmaß. Dieser mäßige Anstieg der Zellzahl ist auf das Kleinerwerden jeder einzelnen Leberzelle zurückzuführen, so daß je Gramm zwar mehr Zellen vorhanden sind, ohne daß diese zu einer Teilungstätigkeit veranlaßt sein müssen. Auffällig ist bei unseren Untersuchungen, daß nur selten Gewichtsverlust und Änderung der Zellzahl parallel gehen, sondern daß die Hungerdauer viel entscheidender ist. Im Gegensatz zu allen größeren Tieren, von der Ratte angefangen, ist die Maus mit ihrem hohen Basalstoffwechsel wesentlich weniger zu längerem Hungern imstande, und alle morphologischen Veränderungen sowie Änderungen der Reaktionen werden wesentlich beschleunigter ablaufen.

Gleichzeitig mit der geringen Zellvermehrung zeigte sich ein deutlicher Anstieg der Mitochondrienzahl. Unsere Normalzahlen liegen mit  $30,93 \times 10^{10}$  innerhalb der weiten Schwankungen anderer Untersuchungsergebnisse (ALLARD  $30,01 \times 10^{10}$ , SHELTON  $12 \times 10^{10}$ , EULER  $5,1 \times 10^{10}$ , HOGEBOM  $110 \times 10^{10}$ ), was besonders methodisch bedingt sein wird. Obwohl man einen Teil der Erhöhung auch auf das durch die Atrophie bedingte relative Ansteigen der Zellzahl je Gramm zurückführen kann, ist hiermit nicht die Gesamterhöhung erklärt. Die Mitochondrienvermehrung ist absolut. Die Leberzelle ist im Beginn des Hungers zu einer erhöhten und andersartigen Stoffwechseltätigkeit veranlaßt. Dadurch sind die Mitochondrien als Hauptfaktoren im Rahmen des Zellstoffwechsels zu einer erhöhten Leistung gezwungen.

Funktionelle Überbelastung aber führt immer zu einer Mitochondrienvermehrung, wobei es gleichgültig ist, ob die Überbeanspruchung durch eine erhöhte Leistung oder eine geringgradige Schädigung bewirkt wird (ALTMANN). Die gleichen Ergebnisse zeigen auch die Untersuchungen an den Sarkosomen der Brustmuskeln gut und schlecht fliegender Vögel (PAUL und SPERLING). HARTMANN fand nach einseitiger Durchschneidung des N. ischiadicus eine Verdopplung der Mitochondrienmenge in den Neuronen der Vorderhörner des Rückenmarkes, bedingt durch den erhöhten Stoffwechsel bei der Regeneration. Mitochondrienvermehrungen im Hunger geben auch ALLARD und Mitarbeiter an. Nach HIRSCH setzen Hunger, Kälte und Alter die Zahl der stäbchenförmigen Mitochondrien herab und erhöhen die Zahl der runden und ovalen. Die Oberflächenvergrößerung ist das Zeichen eines erhöhten Stoffwechsels (ALTMANN).

Den bisher besprochenen Befunden stehen die der Tiere gegenüber, die länger als 48 Std gehungert haben. Die Zellzahl zeigt jetzt einen erheblichen Anstieg, der wohl nicht mehr allein auf die Atrophie des Cytoplasmas zurückgeführt werden kann. Diese Zellvermehrung wird zu einem Teil amitotisch bedingt sein, da Mitosen in den Lebern von Hungertieren fast niemals beobachtet wurden. Wie weit diese Amitosen zu doppelkernigen Zellen führen, können wir aus unseren Versuchen nicht beurteilen. Eine vermehrte Zahl von binucleären Zellen soll bei einem erhöhten oder geschädigten Zellstoffwechsel auftreten. ARAPOW glaubte, eine geringgradige Vermehrung der Zweikernigen im Hunger gesehen zu haben, während MÜNZER keine solchen Befunde erheben konnte.

Der auffälligste unserer Befunde ist der ziemlich plötzliche Umschlag der Mitochondrienzahl auf Werte, die unter dem Normalwert liegen. Diese Ergebnisse sind mehrfach in der Literatur vermutet worden.

A. MEYER nimmt einen Verbrauch und Schwund der Plastosomen bei Hunger an. Bei Kaninchen soll nach 10 Tagen Fasten eine Abnahme der Mitochondrien in der Eizelle eintreten. Nach anfänglichem Zerfall nimmt LÜHRS eine Verklumpung der Mitochondrienbruchstücke an und einen darauffolgenden Abbau. ALTMANN hält den Schwund der Mitochondrien für das früheste Zeichen einer Zelldegeneration. Aber auch bei Fettvermehrung in der Zelle soll die Mitochondrienzahl sinken. OKUNEFF sah zuerst tropfige Veränderungen der Mitochondrien, was er für ein Zeichen der Destruktion absterbender Zellen hält, während KETTLER diese Befunde als durch gesteigerte exogene Eiweißzufuhr zu den Leberzellen bei erhöhter Capillarpermeabilität bedingt deutet, wobei er gleichzeitig auf die funktionelle Zellschädigung im Sinne einer Dysfermentie hinweist. Jegliche Zellschädigung führt zu einer Schwellung und/oder Verklumpung der Mitochondrien (ANITSCHKOW), so auch eine längere Hungerdauer. Diese Vergrößerung und Verminderung der Mitochondrien zusammen mit geringen Verschiebungen im Bluteiweißhaushalt konnten wir gerade nach 72stündigem Hunger im Schnittpräparat nachweisen (DAVID). LAIRD, BARTON und NYGAARD teilten die Mitochondrien in zwei Fraktionen, in kleine und große, und fanden, daß die kleinen beim Hunger wesentlich mehr verschwinden.

Ich glaube, daß gerade *die* Mitochondrien, die durch ihr schnelles Wachstum im Beginn des Hungers den normalen nur im morphologischen Sinne ähnlich sind, zu den weiteren Veränderungen neigen. Sie werden nicht sofort abgebaut, sondern schwellen zuerst einmal durch Ein- und Anlagerung von eiweißreicher Flüssigkeit (HÖTZL und LAUDAHN) als Folge einer Dysorose (ZOLLINGER) an, bzw. verklumpen teilweise miteinander. Auf diese Weise lassen sich die Verringerungen der Mitochondrienmenge in unseren Versuchen erklären. Wie weit die Mitochondrienschädigung geht, ob es zu einem Zerfall der pathologisch veränderten Mitochondrien kommt, ist noch eine offene Frage. Es ist jedoch immerhin daran zu denken, daß ein Teil von ihnen doch schon so schwer geschädigt ist, daß sie bei der rohen Behandlung der Homogenisation zu nicht beurteilbaren Bruchstücken zerschlagen werden. Auf ähnliche Weise deutet ALLARD die von ihm beobachtete rapide Verminderung der Mitochondrienzahl in cancerösem Gewebe, in welchem das Absinken noch wesentlich eindeutiger ist. Auf Grund unserer Untersuchungen ist die Frage der Krebspezifität des Absinkens der Mitochondrienzahl, die in der letzten Zeit häufig diskutiert wurde, mit einiger Vorsicht zu beantworten; scheint doch die Zelle auf viele Schädigungen mit einer Änderung der Mitochondrienmenge zu antworten.

Die Schädigungen der Mäuseleber nach mehrtägigem Hungern sind als wesentlich schwerer wiegend anzusehen als während der ersten beiden Hungertage. Ob diese Veränderungen noch alle rückgängig zu machen sind, ist fraglich. Auch bei einer Rückkehr zur Normalernährung werden die degenerierten Mitochondrien wohl kaum eine normale Funktion erlangen, und sie werden zerfallen. Eine Regeneration kann dann nach einiger Zeit auf eine ähnliche Weise zustande kommen, wie es von HIRSCH als „de novo“-Genese nach ihrer Zerstörung durch Röntgenstrahlen beschrieben ist.

### Summary

1. The number of mitochondria in the liver was determined after homogenisation with the help of a counting chamber and a phase microscope in 103 normal and starving white mice.

2. The normal animals showed values of  $30,93 \times 10^{10}$  mitochondria for every gramme liver. Within the first 48 hours the number of mitochondria increased and diminished considerably during the following fasting days.

3. The decrease in the number of mitochondria during subsequent days is thought to be due especially to the clumping of mitochondria. The question of increased fragility of the mitochondria at this time is also discussed and the problem of specificity of these alterations critically surveyed.

## Literatur

- ALLARD, C., G. DE LAMIRANDE and A. CANTERO: Mitochondrial population of mammalian cells. II. Variation in the mitochondrial population of the average rat liver cell during regeneration. *Cancer Res.* **12**, 580 (1952). — Mitochondrial population of mammalian cells. III. Number of mitochondria per average cell of rat liver tumor induced by 4-Dimethylaminoazobenzene. Significance in the comparative study of mitochondrial fraction properties of normal tissues and tumors. *Canad. J. Med. Sci. (E)* **31**, 103 (1953). — ALLARD, C., R. MATHIEU, G. DE LAMIRANDE and A. CANTERO: Mitochondrial population in mammalian cells. I. Description of a counting technic and preliminary results on rat liver in different physiological and pathological conditions. *Cancer Res.* **12**, 407 (1952). — ALTMANN, H. W.: Allgemeine morphologische Pathologie des Cytoplasmas. Die Pathobiosen. In *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. II/1, S. 419—612. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — ANITSCHKOW, N.: Über Quellungs- und Schrumpfungserscheinungen an Chondriosomen. *Arch. mikrosk. Anat.* **97**, 1 (1923). — ARAPOW, A. B.: Contribution à l'étude des cellules hépatiques binucléaires. *Arch. Sci. biol. publ. l'Inst. Imp. Med. exper. à St. Petersbourg* **8**, H. 2 (1901). — BÖHM, J.: Untersuchungen über zweikernige Zellen. Die Auszählung und Berechnung der zweikernigen Zellen. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **24**, 263 (1931); **25**, 181 (1931). — BUCHER, N. L. R., and A. D. GLINOS: The effect of age on regeneration of rat liver. *Cancer Res.* **10**, 324 (1950). — CLARA, M.: Untersuchungen an menschlichen Leber. II. Über Kerngrößen in den Leberzellen. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **22**, 145 (1930). — DAVID, H.: In Vorbereitung. — EULER, H. v.: Actions of normal and sarcomatous sera on tumour cells. *Pontific. Acad. Sci. scr. var.* **7**, 223 (1949). — HARTMANN, J. F.: Mitochondria in nerve cell bodies following section of axones. *Anat. Rec.* **100**, 49 (1948). — HIRSCH, G. C.: Lebendbeobachtung des Pankreas. I. Restitution. *Z. Zellforsch.* **15**, 37 (1931). — Allgemeine Stoffwechsellmorphologie des Cytoplasmas. In *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. II/1, S. 92—212. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — HOGEBROOM, G. H., W. C. SCHNEIDER and M. J. STRIEBICH: Localization and integration of cellular function. *Cancer Res.* **13**, 617 (1953). — HÖTZL, H., u. G. LAUDAHN: Therapie mit Mitochondrien. *Ärztli. Wschr.* **1956**, 634. — KETTLER, L. H.: Über die Bedeutung morphologischer Nieren- und Leberveränderungen bei Heteroproteinämie. *Z. inn. Med.* **10**, 704 (1955). — LAIRD, A., A. D. BARTON and O. NYGAARD: Synthesis of protein and ribonucleic acid in rat liver during refeeding after starvation. *Exper. Cell Res.* **9**, 523 (1955). — LAIRD, A., O. NYGAARD, H. RIS and A. D. BARTON: Separation of mitochondria into two morphologically and biochemically distinct types. *Exper. Cell Res.* **5**, 147 (1953). — LÜHRS, W.: Morphologische und Bluteiweißuntersuchungen bei qualitativem Nahrungsmangel. *Z. inn. Med.* **5**, 1 (1950). — MEYER, A.: Morphologische und physiologische Analyse der Zellen der Pflanzen und Tiere. Jena 1921. — MÜLLER, H. G.: Die Entwicklung der Kerngrößenverhältnisse in der Leber der weißen Maus. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **41**, 296 (1937). — MÜNZER, F. TH.: Experimentelle Studien über die Zweikernigkeit der Leberzellen. *Arch. mikrosk.-anat.* **98**, 249 (1923)- **104**, 138 (1925). — MURALT, A. v.: Praktische Physiologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1944. — OKUNEFF, N.: Studien über Zellveränderungen im Hungerzustand. *Arch. mikrosk. Anat.* **97**, 187 (1923). — PAUL, M. H., and E. SPERLING: Cyclophorase system. XXIII. Correlation of cyclophorase activity and mitochondrial density in striated muscle. *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **79**, 352 (1952). — SHELTON, E., W. C. SCHNEIDER and M. J. STRIEBICH: A method for counting mitochondria in tissue homogenates. *Anat. Rec.* **112**, 388 (1952). — *Exper. Cell Res.* **4**, 32 (1953). — SIESS, M., u. H. STEGMANN: Meßtechnische Untersuchungen über das Wachstum



der Leber der weißen Maus als Grundlage für morphologisch-funktionelle Studien. Virchows Arch. **318**, 534 (1950). — ST. AUBIN, P. M. G., and N. L. R. BUCHER: A study of binucleate cell counts in resting and regenerating rat liver employing a mechanical method for the separation of liver cells. Anat. Rec. **112**, 797 (1952). — STRIEBICH, M. J., E. SHELTON and W. C. SCHNEIDER: Quantitative morphological studies on the livers and liver homogenates of rats fed 2-methyl- or 3-methyl-4-dimethylaminoazobenzene. Cancer Res. **13**, 279 (1953). — SULKIN, N. M.: A study of the nucleus in the normal and hyperplastic liver of the rat. Amer. J. Anat. **73**, 107 (1943). — YOKOYAMA, H. O., M. E. WILSON, K. K. TSUBOI and R. E. STOWELL: Regeneration of mouse liver after partial hepatectomy. Cancer Res. **13**, 80 (1953). — ZOLLINGER, H. U.: Über hyalintropfige Veränderungen der Nierenhauptstücke als Ausdruck von Eiweißspeicherung. Schweiz. Z. Path. **13**, 146 (1950).

Dr. HEINZ DAVID, Pathologisches Institut der Humboldt-Universität,  
Rudolf-Virchow-Haus der Charité, Berlin N 4, Schumannstr. 20—21

---