

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg  
(Direktor: Prof. Dr. H.-W. ALTMANN)

## **Elektronen- und lichtmikroskopische Untersuchungen am Cytoplasma der Leberzellen nach akuter und chronischer Thioacetamid-Vergiftung\***

Von

**W. THOENES und P. BANNASCH**

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. Januar 1962)

Das Thioacetamid (TAA) hat in der experimentellen Leberforschung aus drei Gründen besonderes Interesse gefunden: Erstens ruft es charakteristische Veränderungen der Leberzellen hervor, zweitens führt es bei geeigneter Dosierung und entsprechend langer Zufuhr regelmäßig zu einer ausgeprägten Lebercirrhose und schließlich entstehen auf dem Boden der TAA-bedingten Cirrhose echte Choangiome bzw. Cholangiocarcinome\*\*. Es sind also Fragen der Cytopathologie, der Cirrhogenese und der Carcinogenese, die mit Hilfe dieser Substanz untersucht werden können.

Die durch TAA hervorgerufene Leberschädigung (FITZHUGH und NELSON 1948, RATHER 1951, weitere Literatur bei ALTMANN und OSTERLAND 1960, BRODEHL 1961) beginnt stets mit charakteristischen Veränderungen der Leber-epithelien im Läppchenzentrum. Im Vordergrund steht dabei einerseits eine ganz ungewöhnliche Volumenzunahme der Kerne und stärker noch der Nucleolen, andererseits eine Störung am sog. Ergastoplasma, deren erstes morphologisches Zeichen eine Umwandlung seiner normalen, scholligen Anordnung in eine diffuse Basophilie des Zelleibes ist. Dieser Vorgang ist bei weiterer Zufuhr des Giftes von einer Verminderung der cytoplasmatischen Ribonucleoproteide begleitet, die schließlich zur Entstehung auffallend heller, meist in Herden zusammengelagerter Leberzellen führen kann. ALTMANN und OSTERLAND haben kürzlich darauf hingewiesen, daß in derartigen Zellen oft vielgestaltige, cytoplasmatische Wirbelbildungen zu beobachten sind, die als eine pathologische Anordnung ribonucleoproteidverarmter oder -freier, dem Endoplasmatischen Reticulum zugehöriger Membransysteme — nach Art mancher „Nebenkerne“ — aufgefaßt werden. Die Autoren vermuten, daß das TAA eine schwerwiegende Störung des RNP-Umsatzes der Leberzellen hervorruft, wobei vor allem die Stoffabgabe vom Kern an das Cytoplasma gehemmt oder vollständig blockiert wird (vgl. KLEINFELD 1957, BECKER 1959).

Es lag danach nahe, den aufgeworfenen Fragen mit Hilfe des Elektronenmikroskopes nachzugehen und dabei den Ablauf der TAA-bedingten Leberschädigung im Bereich der Feinstruktur genauer zu verfolgen, zumal hierüber erst einige erste Befunde nach kurzfristiger TAA-Gabe von EMMELOT u. BENE-

---

\* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

\*\* Siehe Fußnote S. 559.

DETTI (1961) sowie in einem Vortrag von SIMON u. ROUILLER (1961) mitgeteilt worden sind. Im Mittelpunkt des Interesses standen für uns zunächst die Cytoplasma-Veränderungen, insbesondere das Verhalten des Ergastoplasmas und des glatten Endoplasmatischen Reticulums. Da wir bei der TAA-Vergiftung in Übereinstimmung mit anderen Autoren (GUPTA 1956a, SPAIN und GRIFFIN 1957, RÜTTNER und RONDEZ 1959, SACHS u. Mitarb. 1959, GEORGH und MEHNERT 1961 u. a.) regelmäßig einen hochgradigen Glykogenschwund der Leberzellen beobachteten, war zu prüfen, ob die von PORTER und BRUNI (1959) — bei ihren Untersuchungen an der 3-Methyl-Buttergelb-Leber — beobachtete Beziehung zwischen glattem Endoplasmatischem Reticulum und Glykogenstoffwechsel auch bei der TAA-geschädigten Leber festzustellen ist. Über die spezielle Fragestellung hinaus waren durch diese Untersuchungen weitere Aufschlüsse über das Verhalten und die gegenseitigen Beziehungen der cytoplasmatischen Strukturen in der Leberzelle unter normalen und pathologischen Bedingungen zu erwarten.

### Untersuchungsgut und Methodik

Das Untersuchungsgut entstammt einer Versuchsserie von bisher 51 Albinoratten, von denen drei während des Versuches spontan starben. Einzelgruppen von drei Versuchs- bzw. Kontrolltieren, deren durchschnittliches Gewicht zu Beginn des Versuches bei 240 g lag, wurden jeweils in einem Käfig zusammen gehalten. Ihre Nahrung bestand aus „altromin R“<sup>1</sup> ad libitum und aus maximal 20 ml Leitungswasser/Tier/Tag (in Trinkflaschen). Die Ratten erhielten das TAA in Leitungswasser gelöst. Entscheidend für die Wahl dieser Applikationsform war in erster Linie die Möglichkeit einer relativ genauen Dosierung des TAA, die durch Messung der an einem Tage vorgegebenen und der zurückgelassenen Trinkwassermenge gewährleistet war.

In einem ersten kurzfristigen Experiment mit höherer Dosierung („akute Vergiftung“) wurden 2×3 Ratten mit einer 80 mg-%igen TAA-Lösung getränkt. Die Tötung der Tiere erfolgte nach 1 und 2 Tagen (Gesamtdosis 16 bzw. 22 mg/Tier). Trotz der kurzen Versuchsdauer war ein geringer Gewichtsabfall gegenüber den Kontrolltieren festzustellen.

In dem Hauptversuch („chronische Vergiftung“) erhielten die Ratten täglich 20 ml einer 30 mg-%igen TAA-Lösung. Anfangs tranken die Tiere die gesamte vorgegebene Menge (entsprechend 6 mg TAA/Tier/Tag), später — als ihr Allgemeinzustand sich verschlechterte — sank die tägliche Trinkmenge ab, so daß dann nur noch etwa 3–4 mg TAA/Tier/Tag aufgenommen wurden. Während die Gewichtskurven der Versuchstiere bis 14 Tage nach Versuchsbeginn dem stetigen Anstieg der Kontrolltierkurven entsprachen, kam es später zunächst zu einem allmählichen Gewichtsabfall und dann zu einem Sistieren des Wachstums. Bei einzelnen Ratten mit sehr schweren (cirrhotischen) Leberveränderungen fielen die Gewichte sogar weit unter die Anfangswerte ab. Die Tötung der Tiere erfolgte nach 1, 2, 4, 8, 14 Tagen und 4, 5, 8, 12, 17 und 27 Wochen. Pro Versuchstiergruppe wurde ein Kontrolltier getötet und in gleicher Weise wie die Versuchstiere untersucht.

Das Lebergewebe wurde — für die elektronenmikroskopische Untersuchung stets vom vorderen Teil des linken Leberlappens — in kurzem Ätherrausch jeweils vormittags (zwischen 9 und 12 Uhr) entnommen. Lichtmikroskopische Präparation: Fixierung in 10%igem Formalin, Carnoy'scher und Zenker'scher Lösung, Einbettung in Paraffin. Färbungen: HE, van Gieson, Goldner, Kresylechtviolett, PAS, Bestsches Carmin, Feulgen-Lichtgrün, Eisen; Scharlachrot (an Gefrierschnitten). Elektronenmikroskopische Präparation: Fixierung 1–2 Std in 1%iger, isotonischer und gepufferter (pH 7,3) OsO<sub>4</sub>-Lösung mit Rohrzuckerzusatz (PALADE, SJÖSTRAND, CAULFIELD). Entwässerung in aufsteigender Acetonreihe (30, 50, 70, 90, 100%) und Einbettung in Vestopal W mit 1% Initiator und 0,5% Aktivator (KELLENBERGER, SCHWAB und RYTER). Polymerisation 24 Std bei 47° C und weitere 24 Std bei 60° C. Durch die stufenweise Polymerisation bei ansteigenden Temperaturen wurde erreicht, daß das Gewebe gleichmäßiger vom Vestopal durchdrungen und umgeben wurde. Herstellung der

<sup>1</sup> „altromin R“, Alleindiät für Ratten des Spezialfutterwerks Altrogge, Lage/Lippe.

Dünnschnitte mit Glasmessern auf dem Porter-Blum-Mikrotom. Von jedem Block wurden lichtmikroskopische Vergleichsschnitte (1–2  $\mu$  dick) angefertigt und mit konzentrierter Giemsa-Lösung (THOENES 1960) gefärbt. Auf diese Weise war eine genaue Zuordnung der untersuchten Gewebepartie zu den verschiedenen Abschnitten des Leberläppchens möglich. Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen im Siemens-Elmiskop bei 60 kV.

### Zur Nomenklatur

Wegen der Vielfalt und der Unterschiede im Gebrauch der einzelnen Bezeichnungen, besonders im elektronenmikroskopischen Bereich, schicken wir zur Vermeidung von Mißverständnissen einige nomenklatorische Bemerkungen voraus. Wir beschränken uns dabei aus Gründen der Kürze auf nur wenige literarische Hinweise, zumal diese in ausführlicherer Form den Veröffentlichungen anderer Autoren (z. B. HAGUENAU 1958, SCHMIDT 1961) zu entnehmen sind.

Im *sublichtmikroskopischen* Bereich unterscheiden wir innerhalb der Leberzelle ein glattes und ein rauhes Endoplasmatisches Reticulum (ER). Das *glatte ER* besteht aus einfachen, glatt begrenzten, vesiculär-tubulären Elementen, die auffallend stark miteinander vernetzt sind („Netzwerk“, FAWCETT 1955). Das *rauhe ER* besteht in der Regel aus langgestreckten, flachen Säcken, deren Membranen an der Außenseite mit Ribosomen (RNP-Partikeln, Palade-Granula) besetzt sind. Außer diesen membranständigen Ribosomen finden sich in der cytoplasmatischen Matrix *freie* (also nichtmembranständige) *Ribosomen*.

Das *Ergastoplasma* identifizieren wir mit dem *rauen ER*. Es tritt in *organisierter* Form (parallel geschichtete, rauhe Membranprofile) und in *nicht-organisierter* Form (einzeln liegende, rauhe Membranprofile) auf. Die Umwandlung der organisierten in die nicht-organisierte Form bezeichnen wir als „*Disorganisation*“ des Ergastoplasmas, während unter „*Dissoziation*“ des Ergastoplasmas die Ablösung der Ribosomen von den Membranen verstanden wird.

Das organisierte Ergastoplasma (rauhe ER) kann sog. „*Ergastoplasma-Schollen*“ bilden, in deren Verband neben den geschichteten, rauhen Membranprofilen auch freie Ribosomen liegen.

Wesentlich für die *Beziehung zwischen elektronenmikroskopischem und lichtmikroskopischem Bild* ist die Erkenntnis, daß die membranständigen Ribosomen des rauhen ER und die (nicht-membranständigen) freien Ribosomen wegen ihres RNS- bzw. RNP-Gehaltes als Träger der „cytoplasmatischen Basophilie“ anzusehen sind. Die oben erwähnten Anordnungen der RNP-haltigen Strukturen im elektronenmikroskopischen Bereich entsprechen wohl bekannten färberischen Phänomenen im lichtmikroskopischen Bild: die „schollige Basophilie“ des Cytoplasmas ist dadurch bedingt, daß das raue ER und die freien Ribosomen gewissermaßen in konzentrierter Form innerhalb umschriebener Areale vorliegen. Einer „basophilen Scholle“ des lichtmikroskopischen Bildes entspricht daher die oben beschriebene „Ergastoplasma-Scholle“ als ein Komplex aus organisiertem, rauhem ER (Ergastoplasma) und freien Ribosomen. Bei der „diffusen Basophilie“ des hepatocellulären Cytoplasmas fehlen die „Ergastoplasma-Schollen“; das raue ER (Ergastoplasma) liegt vielmehr in nicht-organisierter Form vor, d. h. die ergastoplasmatischen Membranprofile finden sich einzeln und — ebenso wie die freien Ribosomen — mehr oder weniger gleichmäßig im Cytoplasma verteilt.

Wir betonen, daß diese Ausführungen im wesentlichen für die Leberzelle, am ehesten auch noch für die Ganglienzelle gelten, nicht jedoch für andere, ebenfalls ergastoplasmareiche Zellen, wie z.B. Speicheldrüsen- und Plasmazellen; denn in den letzteren ist für die „diffuse“ cytoplasmatische Basophilie auch die organisierte Form des Ergastoplasmas mit verantwortlich.

Obgleich nach dem oben Gesagten beide — membranständige und nicht-membranständige — Ribosomen gleichermaßen für die cytoplasmatische Basophilie und damit für die im lichtmikroskopischen Bild der Leberzelle als „Ergastoplasma“ angesprochene Struktur verantwortlich sind, neigen wir im Gegensatz zu anderen Autoren (vgl. auch SCHMIDT 1961) dazu, bis zur genaueren Abklärung der funktionellen Zusammenhänge *die freien Ribosomen gedanklich und begrifflich von dem Ergastoplasma (im engeren Sinne) zu trennen*. Diese Trennung würde unter anderem bestimmten, wenn auch einstweilen hypothetischen Vorstellungen (BRAUNSTEINER u. Mitarb. 1953, HOWATSON und HAM 1957, BIRBECK und MERCER 1961) Rechnung tragen, wonach dem Ergastoplasma (= rauhen ER) eine entscheidende Rolle bei der Synthese von Eiweiß zur Abgabe *aus* der Zelle (Sekretion), den freien Ribosomen dagegen eine solche bei der Synthese von Eiweiß für den *Eigenbedarf* der Zelle zukommen soll.

## Ergebnisse

### *I. Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde*

Sowohl bei dem kurzfristigen Experiment mit höherer Dosierung („akute Vergiftung“) wie in den ersten Wochen des langfristigen Experimentes mit niedriger Dosierung („chronische Vergiftung“) zeigte die Leber bei normaler Konsistenz makroskopisch lediglich eine verstärkte Läppchenzeichnung in Form einer feinen gelbroten Felerdung. Erst nach 8wöchiger, chronischer Vergiftung war eine leichte Konsistenzvermehrung des Organs zu beobachten, der im histologischen Bild eine beginnende läppchenzentrale Fibrose entsprach. Unter Zunahme der Bindegewebsmenge hatten sich nach 17 Wochen eine regelrechte Lebercirrhose mit Ausbildung von kleinen Knoten und ersten Gallengangswucherungen und nach 27 Wochen — bei ausgeprägt grobknotiger Cirrhose — eindeutige Cholangiome (bis zu 3—4 mm Durchmesser) entwickelt. Die letzteren waren zum Teil so stark entdifferenziert, daß sie auf Grund des histologischen Bildes als Cholangiocarcinome bezeichnet werden müssen. Metastasen dieser Tumoren waren allerdings nicht nachweisbar\*.

Drei Tiere mit schwerer Lebercirrhose starben im Verlaufe des Versuches spontan, wobei in zwei Fällen die Lebercirrhose, in dem dritten Fall ein unabhängig davon entstandenes Dünndarmsarkom die Todesursache darstellten.

Was die Leberzellen betrifft, so fanden sich bei der akuten Vergiftung (mit hoher Dosierung) bereits nach 24 Std in direkter Umgebung der Zentralvene echte, von einer kräftigen, mesenchymalen Reaktion begleitete Zelluntergänge (vgl. GUPTA 1956 b), die bei der chronischen Vergiftung (mit niedrigerer Dosierung)

\* *Anmerkung bei der Korrektur:* Die chronische „Vergiftung“ wurde inzwischen bis zu einer Gesamtdauer von 60 Wochen weitergeführt. Bei zwei Tieren — nach 47 Wochen (Gesamtdosis 1150 mg TAA/Tier) bzw. 53 Wochen (Gesamtdosis 1600 mg TAA/Tier) — fanden sich echte *hepatocelluläre Carcinome*. Dabei scheint es sich um die erste Beobachtung von *Leberzell-* (also nicht Gallengangs-!) *Tumoren* nach TAA zu handeln.

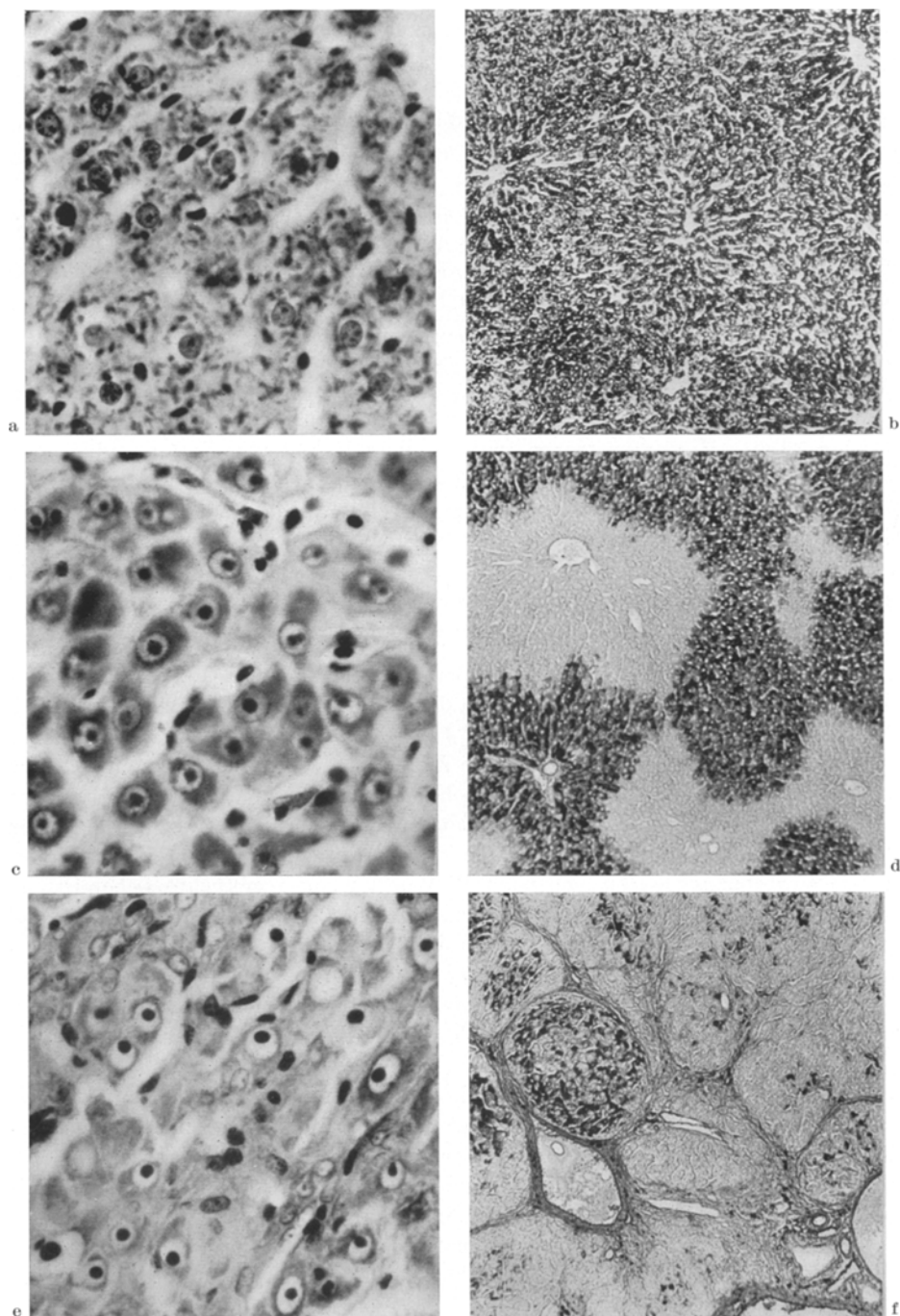


Abb. 1a—f. Leberparenchymveränderungen bei chronischer TAA-Vergiftung (lichtmikroskopisch). a, b Kontrolltiere; c, d nach 8 Tage langer (Gesamtdosis 40 mg), e, f nach 17 Wochen langer (Gesamtdosis 420 mg) TAA-Zufuhr; a, c, e Umwandlung der basophilen Schollen (a) in die diffuse Basophilie des Cytoplasmas (c), schließlich mit Schwund der cytoplasmatischen Basophilie (e). Gleichzeitig starke Vergrößerung der Kerne und der Nucleolen. Kresylechtviolett. 400:1. b, d, f Parallel zu den links gezeigten Zellveränderungen findet sich ein vom Läppchenzentrum ausgehender Schwund des Glykogens. PAS. 50:1

fehlten. Im übrigen waren die Epithelveränderungen in beiden Fällen, wenn auch unterschiedlich ausgeprägt und ausgedehnt, prinzipiell die gleichen. Sie beginnen im Läppchenzentrum und breiten sich — bei akuter Vergiftung sehr rasch, bei chronischer Vergiftung allmählich — in Richtung auf die Läppchenperipherie aus. Dabei ist der Übergang von der zentralen, pathologischen Zone zur peripheren, unveränderten Zone ziemlich scharf, d.h. die intermediäre Zone mit nur schwach alterierten Zellen ist außerordentlich schmal. Erst mit Eintritt des cirrhotischen Umbaues verwischt sich dieses Bild mehr und mehr. Hier trifft man Knoten mit stark pathologischen Zellen neben solchen mit weitgehend oder sogar vollständig normal erscheinenden Epithelien.

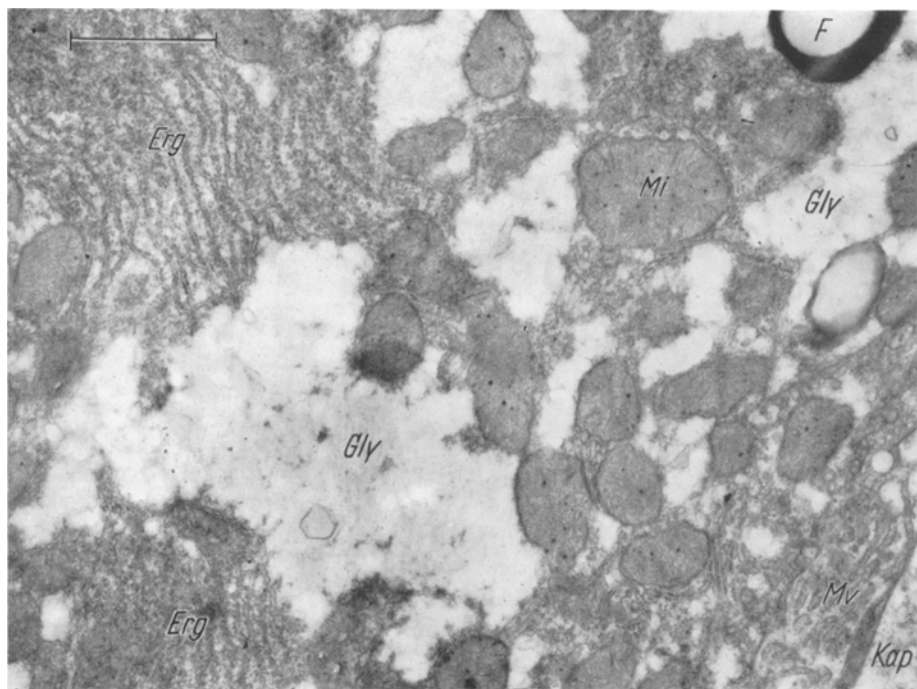
Die hervorstechenden cytologischen Phänomene nach TAA-Vergiftung, wie Kern- und Nucleolenvergrößerung einerseits, Auflösung und zunehmender Schwund des Ergastoplasmas sowie cytoplasmatische Wirbelbildung (ALTMANN und OSTERLAND 1961) andererseits, haben wir in unseren Versuchen in allen Einzelheiten bestätigen können. Wir verzichten daher auf eine Wiederholung und verweisen auf die Abbildungen und Legenden (Abb. 1).

Besonders hervorheben möchten wir aber den häufig nur als Nebenbefund erwähnten (GUPTA 1956, RÜTTNER und RONDEZ 1959, KLEINFELD 1957 u. a.), hochgradigen Glykogenschwund der geschädigten Leberzellen. Er beginnt parallel mit den eben genannten Zell-, insbesondere Ergastoplasmaveränderungen ebenfalls im Läppchenzentrum und breitet sich in Form einer glykogenfreien Zone zur Peripherie hin aus (Abb. 1d). Bei der akuten Vergiftung erfolgt dieses Fortschreiten zur Läppchenperipherie sehr rasch, so daß bereits nach 2 Tagen in der gesamten Leber praktisch kein Glykogen mehr nachweisbar ist. Bei der chronischen Vergiftung nimmt der Glykogenschwund etwas langsamer zu, er kann etwa von der 8.—12. Woche sistieren, wobei in der Läppchenperipherie ein Saum glykogenhaltiger Leberzellen erhalten bleibt, er kann aber auch, z.B. im Cirrhosestadium nach 17wöchiger TAA-Gabe (Abb. 1f), fast das gesamte Parenchym betreffen. Wie man sich an simultan gefärbten Präparaten überzeugen kann, besteht im histologischen Bild eine enge Korrelation zwischen dem Glykogenverlust und den übrigen TAA-bedingten Zellveränderungen, die oben erwähnt wurden, mit anderen Worten, die glykogenfreie Zone deckt sich in ihrer Ausdehnung weitgehend mit jener Läppchenzone, in der die Leberzellen die für die TAA-Vergiftung charakteristischen Kern- und Cytoplasma-Veränderungen zeigen.

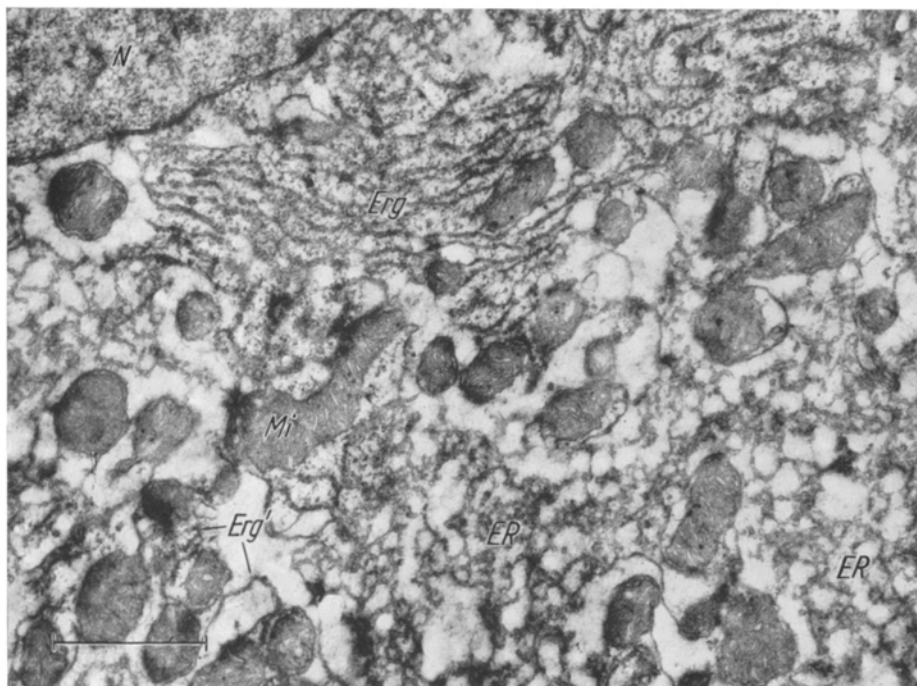
## II. Elektronenmikroskopische Befunde

Die sublichtmikroskopische Struktur der normalen Leberzelle ist von mehreren Autoren beschrieben worden und in ihren Grundzügen bekannt. Mehr als bei vielen anderen Zellarten im Organismus scheint jedoch die Feinstruktur der Leberzellen je nach den Lebens-, insbesondere Nahrungsbedingungen in gewissen Grenzen zu schwanken. Zur Abgrenzung der pathologischen Veränderungen war es daher notwendig, die Leberzellstruktur unserer unter den gleichen Grundbedingungen wie die Versuchstiere gehaltenen Kontrollratten genauer zu analysieren.

Da nach TAA-Einwirkung bekanntlich die im Läppchenzentrum gelegenen Leberzellen die stärksten Veränderungen aufweisen, konzentrierten wir die elektronenmikroskopische Untersuchung auf diesen Läppchenabschnitt (vgl. Methodik). Die dargestellten Befunde beziehen sich bei den Kontroll- und den TAA-



a



b

Abb. 2a u. b. Ausschnitte aus Leberzellen von Kontrolltieren (elektronenmikroskopisch). a Glykogenreiche Zelle mit „Schollen“ organisiertem Ergastoplasma (*Erg*). 19000:1; b Glykogenarme Zelle mit teils aufgelockertem, organisiertem (*Erg*), teils nicht-organisiertem (*Erg'*) Ergastoplasma. Anstelle der Glykogenzonen glattes Endoplasmatisches Retikulum („Netzwerk“) (*ER*). 20000:1. *Mi* Mitochondrien, *Gly* Glykogenzonen, *Mv* Microvilli der Leberzelle, zur Bluteapillare (*Kap*) gerichtet, *N* Zellkern

behandelten Tieren aus Gründen des Vergleichs *nur auf das Läppchenzentrum*. Bei den ausgeprägten Cirrhosen wurden nach den cytologischen Kriterien diejenigen Läppchen bzw. Knoten ausgewählt, deren Zellen ausgeprägte, TAA-bedingte Schädigungen aufwiesen.

**Kontrolltiere.** Nach der Feinstruktur des Cytoplasmas konnten bei unbehandelten Tieren im wesentlichen zwei Zustandsbilder von Leberzellen unterschieden werden. Bei dem ersten — unter unseren Bedingungen selteneren — (Abb. 2a) findet sich das Ergastoplasma (Erg) überwiegend, wenn nicht ausschließlich in organisierter Form, wobei in der Regel größere Ergastoplasma-Schollen gebildet werden. Die Mitochondrien (Mi), die meist eine dichte Matrix, locker angeordnete, radiär gestellte Christae und mehrere osmiophile Granula enthalten, sind entweder den Ergastoplasmazonen assoziiert oder bilden eigene Gruppen. Abwechselnd mit solchen struktureicheren und daher dichteren Cytoplasmaabschnitten finden sich vergleichsweise helle Bezirke mit den Charakteristika der Glykogenzonen (Gly), in denen — bei reiner Osmiumtetroxyd-Fixierung — das Grundplasma wolkig oder fleckig erscheint und gelegentlich einzelne ringförmige, membranöse Profile zu beobachten sind. Das zweite, weit häufigere Zustandsbild (Abb. 2b) ist folgendermaßen gekennzeichnet: Die organisierten Ergastoplasmazonen (Erg) sind etwas seltener und zudem nicht mehr so dicht und streng geordnet, zum Teil liegt das Ergastoplasma sogar in nicht-organisierter Form (Erg'), also in Einzel-lamellen vor, welche meist an Mitochondrien angeschmiegt sind. Ein Teil der freien Ribosomen liegt locker im Cytoplasma verstreut. Eigentliche „Glykogenzonen“ sind selten oder überhaupt nicht nachweisbar. Dafür nimmt das glatte ER (in Gestalt eines für die Leberzelle charakteristischen, relativ engmaschigen „Netzwerkes“) größere Teile des Cytoplasmas ein.

Zwischen diesen beiden, bei jedem Kontrolltier anzutreffenden Bildern von Leberzellen, deren übrige Cytoplasmabestandteile keine systematischen Unterschiede erkennen lassen, finden sich alle Übergänge.

Es sei erwähnt, daß sich die beiden Zellformen im lichtmikroskopischen Präparat nicht so deutlich unterscheiden, am ehesten noch dadurch, daß die zuerst genannten Zellen im Kresylviolett- wie im PAS-Präparat durch ein besonders grobscholliges Cytoplasma auffallen, während bei der zweiten Zellform sowohl die Ergastoplasma- als auch die stets vorhandenen Glykogenschollen zarter und zudem blasser gefärbt sind. Wenn die letzteren Zellen elektronenmikroskopisch keine typischen „Glykogenzonen“ erkennen lassen, dann deshalb, weil das Glykogen in ihnen, wie orientierende „Färbungen“ mit Bleihydroxyd (WATSON 1958) ergaben, sowohl in lockererer Verteilung als auch in geringerer Menge vorliegt.

**TAA-vergiftete Tiere.** Die bei der akuten und chronischen TAA-Vergiftung zu beobachtenden Cytoplasmaveränderungen können gemeinsam besprochen werden, da sie sich nur im Detail, nicht im Prinzipiellen unterscheiden — wenn man von den nekrotischen Leberzellen bei der akuten Vergiftung absieht, die hier nicht berücksichtigt werden.

Im Bereich des *Ergastoplasmas* kommt es mit steigender TAA-Gesamtdosis zu einer fortschreitenden Umwandlung der organisierten in die nichtorganisierte Form, d. h. die ergastoplasmatischen Lamellen (Erg) finden sich nicht mehr gruppiert in regelmäßiger Schichtung, sondern einzeln im Cytoplasma verteilt (Abb. 3 und 4).



Sie weisen dabei zunächst unverändert ihren Besatz mit RNP-Partikeln auf und umgeben zum Teil ring- oder mantelförmig die Mitochondrien (Mi), die ihrerseits nicht mehr in Gruppen angeordnet, sondern gleichmäßig im Zelleib verteilt sind. Dieser Status der Disorganisation wird praktisch von allen läppchenzentral gelegenen Leberzellen bei der akuten Vergiftung binnen 1—2 Tagen, bei der

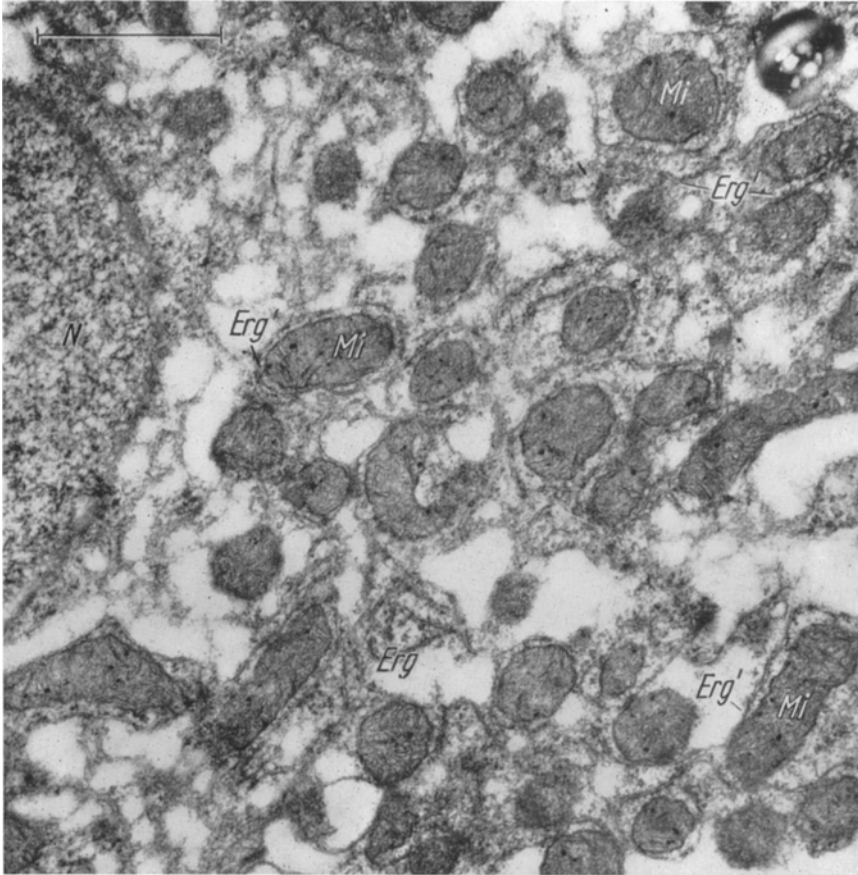


Abb. 3. Leberzelle bei „chronischer“ TAA-Vergiftung (14 Tage, Gesamtdosis 55 mg). Disorganisation des Ergastoplasmas (*Erg'*). Die ergastoplasmatischen Membranprofile sind diffus verteilt und meist in engem Kontakt mit den Mitochondrien (*Mi*). Nur noch spärliche Reste organisierten Ergastoplasmas (*Erg*). *N* Zellkern. 24000:1

chronischen Vergiftung innerhalb 8—14 Tagen erreicht. Während im ersteren Fall gleich darauf oder sogar Hand in Hand mit dem Vorgang der Disorganisation der Zerfall des Ergastoplasmas erfolgt (Abb. 5), behält bei der chronischen Vergiftung ein großer Teil der Zellen den Status der Disorganisation über Wochen und Monate bei. Mit längerer TAA-Gabe (etwa ab 17. Woche, Gesamtdosis 420 mg) tauchen darüber hinaus immer häufiger Zellen auf, in denen auch die mantelförmige Lagerung der Ergastoplasmasäcke um die Mitochondrien nur noch angedeutet ist oder sogar völlig fehlt. Statt dessen liegen sie in gestreckter, geschlängelter oder fragmentierter Form wahllos im Cytoplasma verstreut, zeigen des öfteren blasige Auftreibungen und verminderten Besatz von RNP-Partikeln

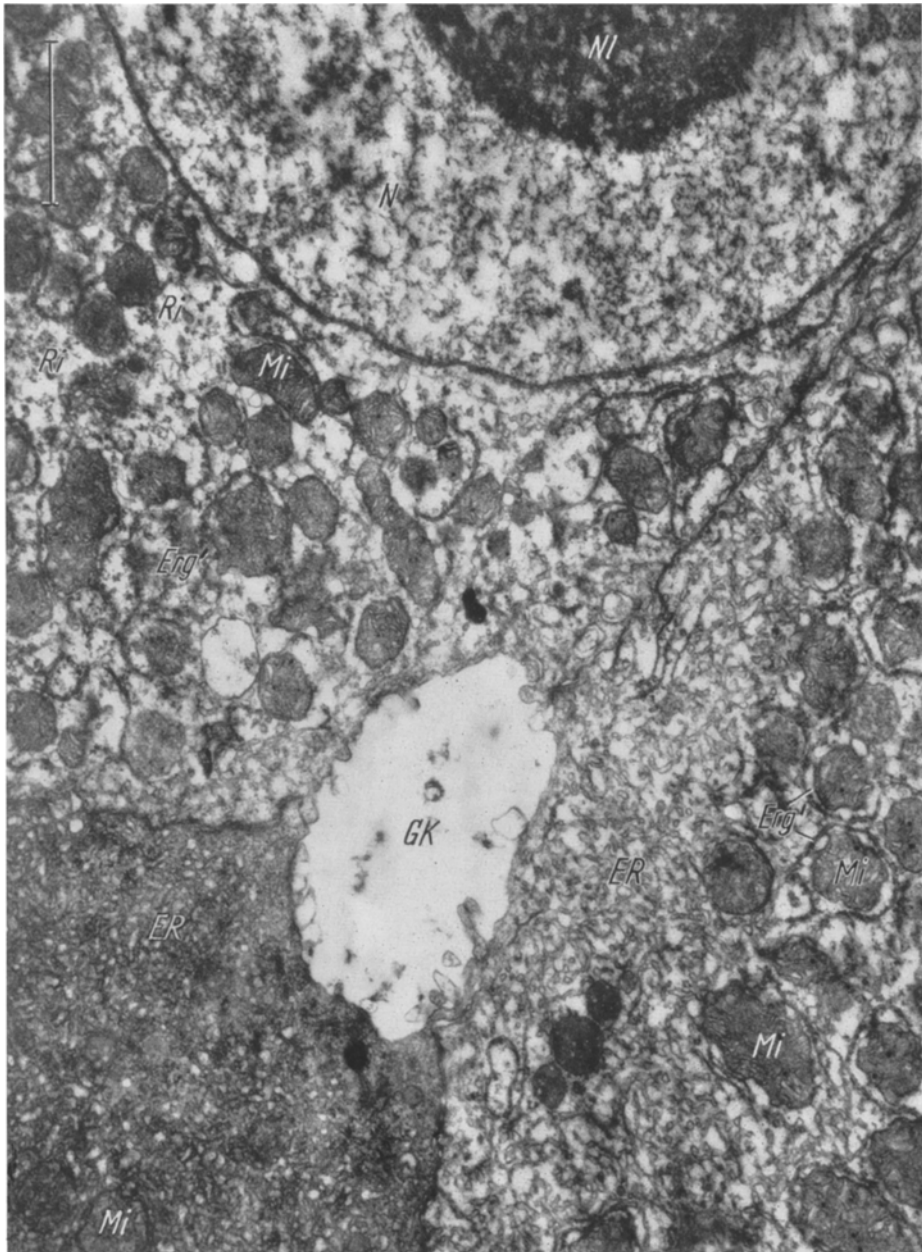


Abb. 4. Ausschnitte aus drei Leberzellen bei chronischer TAA-Vergiftung (27 Wochen, Gesamtdosis 730 mg). Neben disorganisiertem Ergastoplasma (*Erg'*), dessen Membranprofile die Mitochondrien (*Mi*) häufig mantelförmig umgeben, reichlich glattes Endoplasmatisches Reticulum (*ER*), das in der linken unteren Zelle („dunkle Leberzelle“) außerordentlich dicht ist. Zwischen dem disorganisierten Ergastoplasma freie Ribosomen (*Ri*). Oben Zellkern (*N*) mit stark vergrößertem Nucleolus (*NI*). Im Zentrum Gallencapillare (*GK*). 22000:1

(Abb. 6) oder sie bilden „kleine Ringprofile“ (Abb. 7). Solche Ringprofile treten in dreierlei Gestalt auf, erstens als raue Form mit durchgehendem

Spatium zwischen den Membranen ( $\rightarrow$ ), zweitens als glatte Form mit durchgehendem Spatium ( $\leftrightarrow$ ) und drittens als glatte Form mit vesiculär-perlschnurartiger Struktur ( $\# \rightarrow$ ), wie sie den Elementen des glatten ER eigen ist (Abb. 7). (Wegen des fehlenden granulären Besatzes wären die beiden letzteren, streng genommen, nicht mehr zum Ergastoplasma zu rechnen.) In derart veränderten

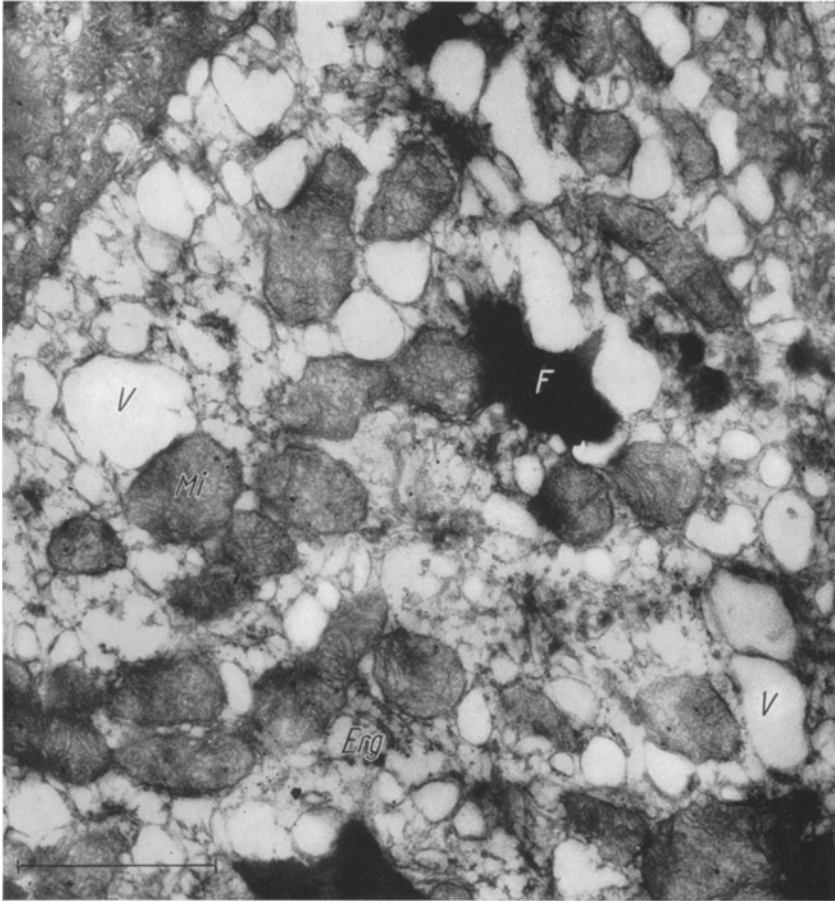


Abb. 5. Leberzelle bei akuter TAA-Vergiftung (1 Tag, Gesamtdosis 16 mg). Cytoplasma durchsetzt von zahlreichen, optisch leeren (wasserhaltigen?) Vacuolen (*V*) mit zarter Grenzmembran. Dazwischen Mitochondrien (*Mi*), Fetttropfen (*F*) und nur ganz vereinzelt Bruchstücke von Ergastoplasmaprofilen (*Erg*). Links oben dunkle Zelle mit dichter cytoplasmatischer Matrix. 26 000:1

Zellen erscheint die Zahl der im Schnitt getroffenen ergastoplasmatischen Elemente pro Flächeneinheit gegenüber der Normalzelle deutlich geringer, so daß der Eindruck einer Verminderung des Ergastoplasmas entsteht. Allerdings muß betont werden, daß Aussagen über das *quantitative* Verhalten des Ergastoplasmas auf Grund des elektronenmikroskopischen Bildes nur mit Vorbehalt möglich sind. Es kann sich nur um Eindrücke, nicht um gesicherte Aussagen handeln. Deshalb beschränken wir uns auf die Angabe, daß das Ergastoplasma im Stadium der einfachen Disorganisation nicht sicher verringert erscheint, während bei den zuletzt geschilderten Zellen mit den „fortgeschrittenen“ Ergastoplasmaverände-

rungen auf eine quantitative Abnahme geschlossen werden muß. Zellen mit praktisch vollständigem Ergastoplasma-*Verlust* haben wir bei der chronischen Vergiftung in den bisher untersuchten Stadien nicht feststellen können, sehr wohl dagegen bei der akuten Vergiftung bereits nach 1—2 Tagen (Abb. 5). Der Ergastoplasma-Zerfall scheint — möglicherweise abhängig von der Geschwindigkeit, mit der er abläuft — verschiedene Wege gehen zu können, sei es, daß die ergastoplasmatischen Membranprofile durch Fragmentation direkt der Auflösung anheimfallen, sei es, daß sie zunächst eine feinblasige Auftreibung mit und ohne

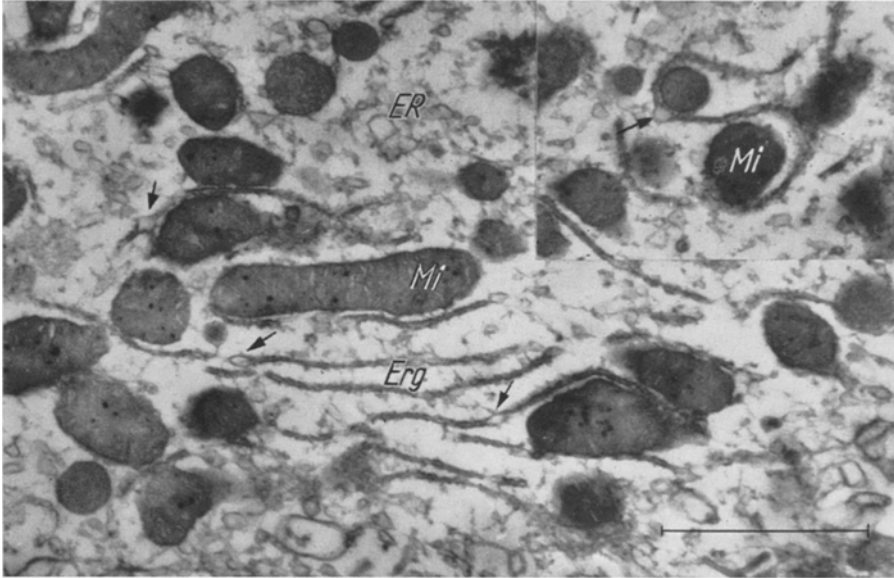


Abb. 6. Leberzelle bei „chronischer“ TAA-Vergiftung (8 Tage, Gesamtdosis 40 mg). Ergastoplasma (Erg) mit umschriebenen blasigen Auftreibungen (→) und stellenweise verringertem Besatz an Ribosomen. Aufgelockertes „Netzwerk“ (ER) in sehr transparentem Grundplasma. Mi Mitochondrien. 27 000:1

Verlust des granulären Besatzes erfahren (Abb. 6). Eine grobcystische Erweiterung haben wir dagegen nicht sicher nachweisen können.

Parallel mit den eben geschilderten Veränderungen des Ergastoplasmas verschwinden im elektronenmikroskopischen Bild die *Glykogenzonen* vollständig. Gleichzeitig beobachtet man eine Zunahme des *glatten ER* (Abb. 4 und 8), das in den Zellen entweder neu auftaucht oder an Ausdehnung zunimmt. Es tritt bei der chronischen Vergiftung vornehmlich in der Form kleiner, vesiculärer, oft perlschnurartig angeordneter und miteinander vernetzter Elemente auf, wobei es des öfteren ziemlich große und dichte Knäuel bildet, die, mehr in der Zellperipherie gelegen, den Raum zwischen den mitochondrienhaltigen Zonen des disorganisierten Ergastoplasmas einnehmen (Abb. 8). In ihrem Bereich fehlen RNP-Partikel und Mitochondrien ganz. An den Berührungsstellen zwischen Netzwerk- und Ergastoplasmazonen erkennt man mehrfach Übergänge zwischen den mit RNP-Partikeln besetzten Ergastoplasmalamellen und den glatten, tubulär-vesiculären Elementen des Netzwerks (Abb. 8).

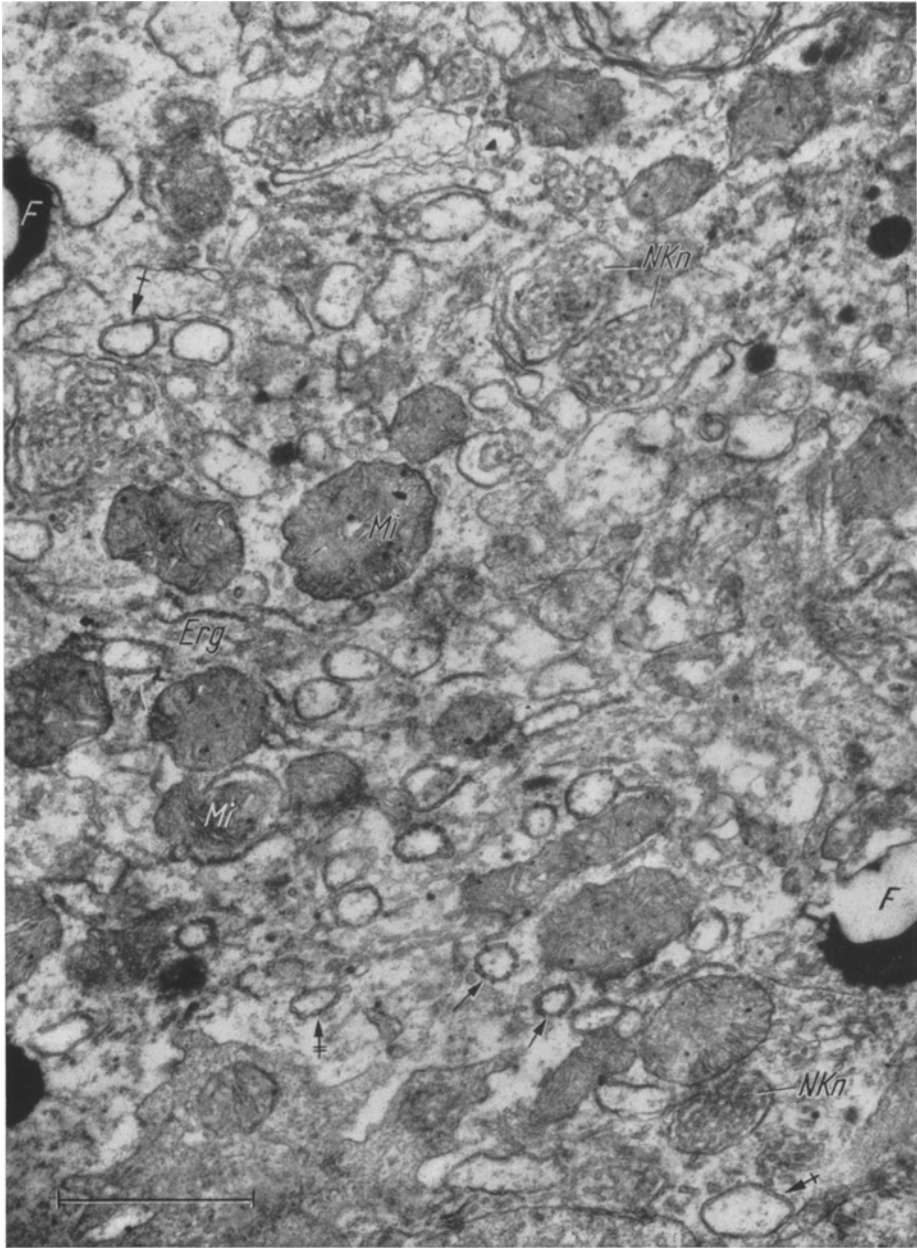


Abb. 7. Leberzelle bei chronischer TAA-Vergiftung (17 Wochen, Gesamtdosis 420 mg). Starker Schwund des Ergastoplasmas, dessen Membranprofile kaum noch in Kontakt mit Mitochondrien (*Mi*) stehen, sondern in geschlängelter oder fragmentierter Form vorliegen. Mehrere Formen sog. „kleiner Ringprofile“ ( $\rightarrow$   $\dagger$   $\#$  Erklärung s. Text, S. 566). Außerdem mehrere (membranbegrenzte) „kleine Netzwerk-Knäuel“ (*NKn*). *F* Vacuolisierte Fetttropfen. 26000:1

Während bei der chronischen Vergiftung die tubulär-vesiculären Elemente des Netzwerks in der Regel aus leidlich scharf konturierten Membranen bestehen, die einen hellen Binnenraum umschließen, kommen bei der akuten Vergiftung abge-

grenzte, bläschenförmige Gebilde nur stellenweise zustande; weite Teile des Cytoplasmas sind dagegen von einer Art Maschen- oder Schwammwerk eingenom-

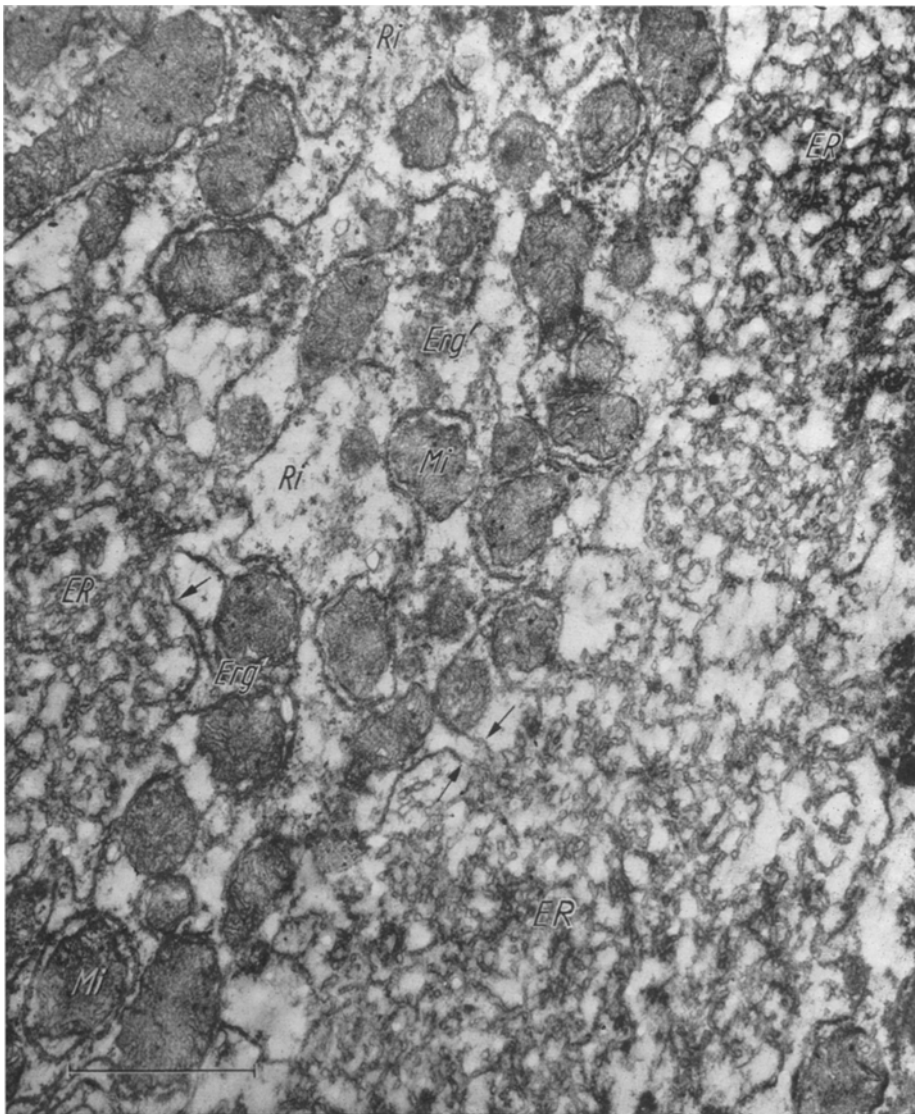


Abb. 8. Leberzelle bei chronischer TAA-Vergiftung (27 Wochen, Gesamtdosis 730 mg). In der Mitte disorganisiertes Ergastoplasma (*Erg'*) mit mantelförmiger Lagerung der Membranprofile um Mitochondrien (*Mi*) sowie verstreut liegende freie Ribosomen (*Ri*). Rechts und links davon große Abschnitte dichten („hypertrophierten“) Netzwerks (*ER*). An mehreren Stellen Übergänge zwischen glattem und rauhem Endoplasmatischem Reticulum (→). 24 000:1

men, in dem eine bestimmte Gliederung nicht zu erkennen ist (Abb. 10). Auf den ersten Blick würde man daher einen Zusammenhang mit dem glatten ER nicht vermuten, sondern wie OBERLING und ROULLER (1956) eher an eine bestimmte Zustandsform des Grundplasmas denken, wenn nicht jenes (undifferenzierte)



Maschenwerk an einigen Stellen in typische, der Netzwerkformation des glatten ER entsprechende, vesiculär differenzierte Abschnitte überginge.

Des öfteren — besonders in Zellen mit fortgeschrittenen Ergastoplasma-veränderungen — finden sich sehr kleine, isolierte „Netzwerk-Knäuel“ mit einem

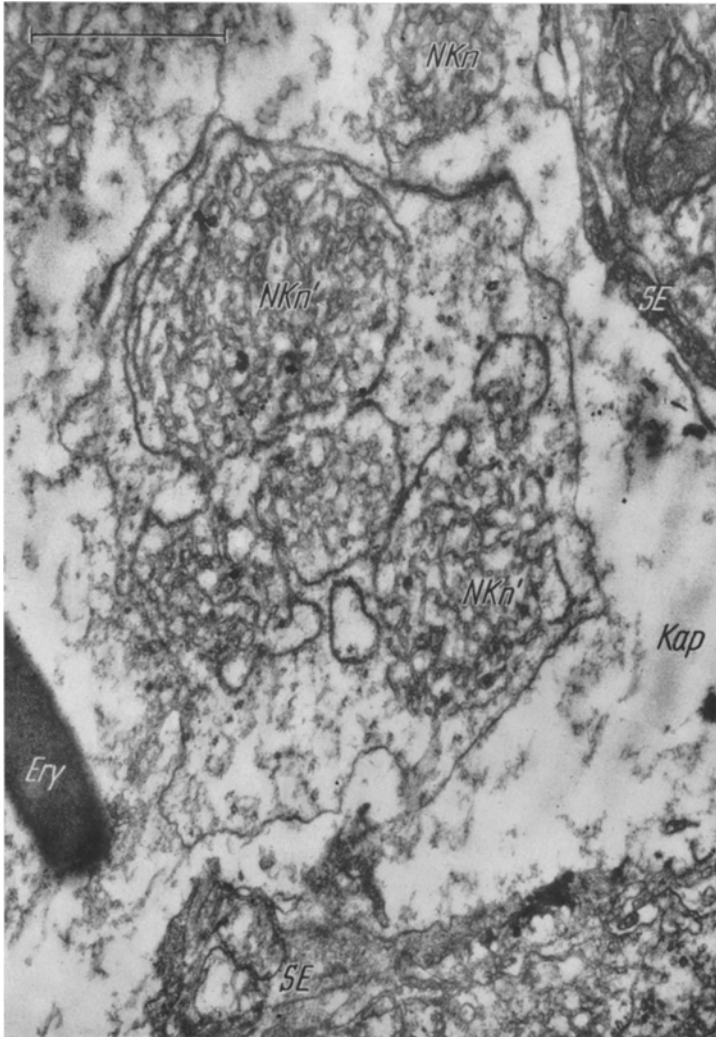


Abb. 9. Lebercapillare bei chronischer TAA-Vergiftung (27 Wochen, Gesamtdosis 730 mg). „Kleine Netzwerk-Knäuel“ (*NKn*) frei in der Capillarlichtung (*Kap*) bzw. innerhalb eines (abgestoßenen) Zellteiles (*NKn'*). *Ery* Erythrocyt, *SE* Sinusendothel (= Kupffersche Sternzelle). 26000:1

Durchmesser von  $0,5-2\mu$ , die in der Regel von einer zweischichtigen Membran umgeben sind (Abb. 7). Solche kleinen Knäuel haben wir vereinzelt auch in der Lichtung von Lebercapillaren gesehen, und zwar frei oder innerhalb von (abgestoßenen) Zellresten im Blutplasma schwimmend (Abb. 9).

Zu jeder Zeit der TAA-Vergiftung kann man außerdem auffallende *Komplexe konzentrisch geschichteter* (glatter, also nicht mit Ribosomen besetzter) *Membranen*

finden (Abb. 10, 11), die in kontinuierlicher Verbindung zum Netzwerk stehen. Sie bilden teils wirbelartige Formationen, teils solche, die wegen des gewellten Verlaufes der Membranen an eine Haarlocke erinnern (Abb. 10). Die Verbindung zwischen dem Netzwerk und den Membranen ist stellenweise sehr deutlich; man erkennt, wie sich mehrere Tubuli des Netzwerkes kontinuierlich in die Membrankomplexe hinein fortsetzen (Abb. 11). Dementsprechend können die

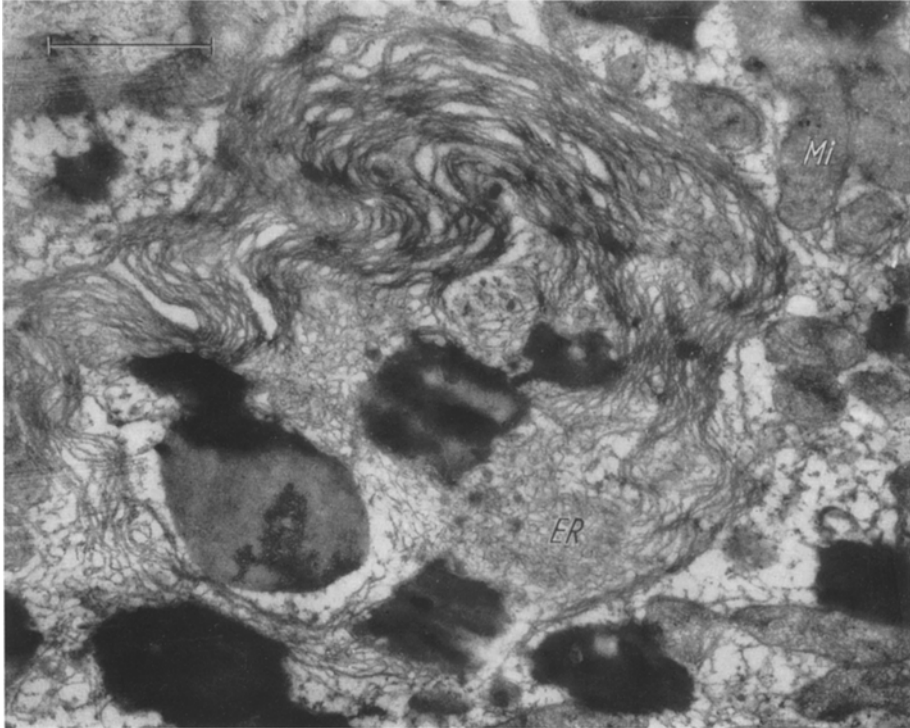


Abb. 10. Leberzelle bei akuter TAA-Vergiftung (2 Tage, Gesamtdosis 22 mg). Konzentrisch geschichteter bzw. gebündelter Membrankomplex in Verbindung mit dem glatten Endoplasmatischen Reticulum (ER), welches in den akut geschädigten Zellen meist ein vergleichsweise undifferenziertes Maschenwerk bildet. Mitochondrien (Mi) und Fetttropfen (F), zum Teil in den Membrankomplex eingeschlossen.  
21000:1

Membranen auch innerhalb der Komplexe eine Zweischichtung beibehalten. In anderen Fällen — vor allem bei der akuten Vergiftung, also mutmaßlich als Folge einer überstürzten Bildung — sind die Membranen viel unregelmäßiger angeordnet, zeigen teils schmale, teils weite Abstände und schließen des öfteren andere Bestandteile des Cytoplasmas, z. B. Mitochondrien, Fetttropfen usw. zwischen sich und damit in die Membrankomplexe ein (Abb. 10).

Es ist noch zu erwähnen, daß bei vielen, jedoch keineswegs bei allen Zellen mit fortgeschrittenen Ergastoplasmaveränderungen vermehrt *Fetttropfen* in der cytoplasmatischen Matrix auftreten (Abb. 5, 10 und 11). Sie zeigen keinerlei Beziehung zu bestimmten Cytoplasmastrukturen und sind bei der akuten Vergiftung im Durchschnitt etwas größer als bei der chronischen (Durchmesser 0,05—2  $\mu$ ). Ihre äußere Kontur ist teils glatt, teils etwas aufgesplittert, im Innern



sind sie manchmal homogen, manchmal zum Zentrum hin aufgelockert oder sie enthalten eine oder mehrere glattbegrenzte, optisch leere Vacuolen.

Die *Mitochondrien* lassen während der von uns beobachteten Stadien der akuten und chronischen Vergiftung keine eindeutigen Alterationen erkennen, auch nicht

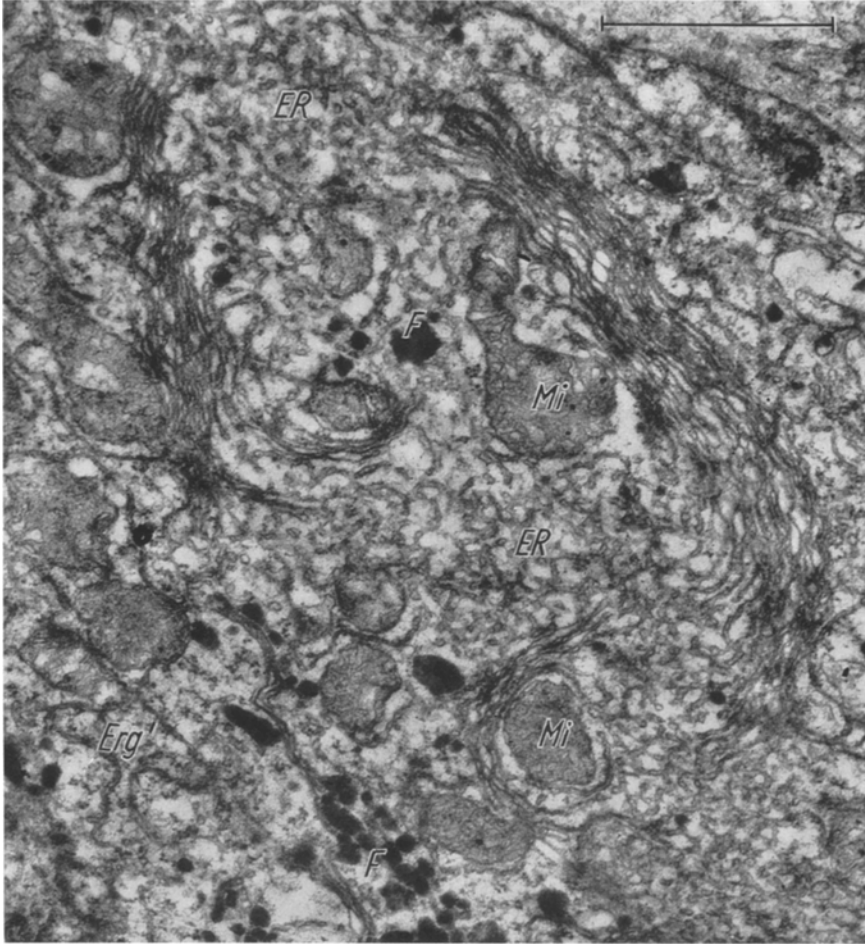


Abb. 11. Leberzelle bei chronischer TAA-Vergiftung (17 Wochen, Gesamtdosis 420 mg). (In Bildung begriffener?) geschichteter bzw. gebündelter Membrankomplex. Die Profile des Netzwerks (ER) setzen sich kontinuierlich in die konzentrischen Membranabschnitte hinein fort. Dementsprechend erkennt man in diesen stellenweise eine Zweischichtung. Erg' disorganisiertes Ergastoplasma, Mi Mitochondrien, F Fetttropfen. 30 000:1

in den Zellen mit fortgeschrittenen Veränderungen oder fast vollständigem Verlust des Ergastoplasmas (Abb. 5 und 7). Typische Mitochondrienschwellungen wurden so gut wie nie beobachtet, eher schien uns die Matrix der Mitochondrien manchmal verdichtet.

Auch an den übrigen geformten Bestandteilen des Cytoplasmas, insbesondere am *Golgi-Feld*, sowie an der *Zellmembran* waren keine Besonderheiten festzustellen. Lediglich die Microvilli an den Gallencapillaren zeigten des öfteren eine ballon-

förmige Auftreibung, während die zur Blutcapillare hin gelegenen häufig verstrichen waren.

Die *cytoplasmatische Matrix* (Grundplasma) ist in der gesamten Zelle gleichförmig beschaffen und in den meisten Fällen von mittlerer Dichte. Daneben gibt es — offenbar abhängig vom Wassergehalt — einerseits Zellen, deren Grundplasma so stark verdichtet und gleichzeitig verschmälert ist, daß die übrigen, membranösen und granulären Cytoplasmastrukturen eng beieinanderliegen und sich im elektronenmikroskopischen Bild von der Umgebung kaum abheben (sog. „dunkle Leberzellen“, siehe Abb. 4 links unten, Abb. 5 links oben), andererseits solche, in denen die cytoplasmatische Matrix im Gegensatz dazu ausgesprochen hell, fast „leer“ erscheint und die geformten Elemente locker verstreut sind (Abb. 6). Die letzteren Zellen zeigen häufig fortgeschrittene Ergastoplasmaveränderungen. Bei der akuten Vergiftung enthält das Grundplasma des öfteren 0,2—1  $\mu$  große, optisch leere, meist von einer zarten Membran begrenzte Vacuolen (Abb. 5), wie sie auch bei akuten Leberzellschädigungen anderer Art (OBERLING und ROUILLER 1956, MÖLBERT 1957, JEZEQUEL 1958, HANZON 1960, HÜBNER und BERNHARD 1961, EMMELOT und BENEDETTI 1961) beobachtet worden sind. Bei einigen dieser Vacuolen ließ sich jedoch eine Grenzmembran nicht sicher nachweisen — hier zeigte sich am Rand der Vacuole lediglich ein scharfer Dichteunterschied zum umgebenden Grundplasma —, wieder andere Vacuolen waren nur partiell von einer Membran umgeben. Gerade das letztere Phänomen, also der Übergang zwischen dem einfachen Dichteunterschied und der distinkten Membran am Rande ein und derselben Vacuole, spricht dafür, daß die Membran zur Abgrenzung des Vacuoleninhaltes vom Cytoplasma selbst gebildet wird. Da rauhe, also ergastoplasmathe Membranen bei dieser Vacuolenart nie zu beobachten sind, kann es sich nicht um cystisch erweiterte Ergastoplasma-Zystrernen handeln.

Abschließend sei darauf hingewiesen, daß die Veränderungen in der Feinstruktur des Cytoplasmas, insbesondere des Ergastoplasmas, etwa in der Reihenfolge geschildert wurden, in der sie bei dem Gros der Leberzellen im Laufe der akuten und chronischen Vergiftung auftreten. Allerdings muß betont werden, daß sich die Leberzellen bei ein und demselben Tier und bei gleicher Lage im Läppchen keineswegs streng synchron verhalten, daß wir also in derselben Läppchenregion Leberzellen mit verschiedenen Formen bzw. Stadien der Cytoplasmaveränderungen nebeneinander antreffen können.

### Diskussion

Überblickt man die dargestellten Befunde am Cytoplasma der Leberzellen bei akuter und chronischer TAA-Vergiftung, so lassen sich folgende Punkte herausstellen:

1. Das *Ergastoplasma* wird von der organisierten Form in die nichtorganisierte Form übergeführt. Während im Zuge dieser Umwandlung bei der *akuten* Vergiftung binnen 1—2 Tagen ein fast vollständiger Schwund des Ergastoplasmas eintritt, behält bei der *chronischen* Vergiftung ein Teil der Zellen den Status der Disorganisation offenbar über Wochen und Monate bei. Ein anderer Teil erfährt dagegen weitere („fortgeschrittene“) Ergastoplasma-Veränderungen, die mit einer quantitativen Abnahme der Ergastoplasmastrukturen verbunden sind.

2. Gleichzeitig erfährt das *glatte Endoplasmatische Reticulum* (ER) (in der typischen „Netzwerkformation“) eine starke Entwicklung bzw. Ausbreitung. Aus dem Netzwerk können sich in allen Stadien der Vergiftung wirbelartige, konzentrisch geschichtete (agranuläre) *Membransysteme* formieren.

3. Hand in Hand mit den Veränderungen des Ergastoplasmas und des glatten ER — sowohl im zeitlichen Ablauf wie im Schweregrad — kommt es zum Schwund des *Glykogens*.

4. Eine fein- bis mitteltropfige *Verfettung* kommt bei akuter Vergiftung sehr früh, schon nach einem Tag, bei chronischer Vergiftung dagegen erst ziemlich spät, meist erst im Stadium der Cirrhose zustande. Sie betrifft die Zellen in ganz unsystematischer Weise und steht nur in lockerer Beziehung zu Art und Schwere der übrigen Cytoplasmaveränderungen.

5. Die *Mitochondrien* zeigen in qualitativer Beziehung gegenüber denjenigen der Kontrolltiere keine signifikanten Unterschiede; sie bleiben in den von uns untersuchten Stadien der akuten und chronischen Vergiftung morphologisch intakt.

Aus dieser Übersicht geht hervor, daß die stärksten, morphologisch faßbaren Veränderungen im Cytoplasma der Leberzellen das *Ergastoplasma*, das *glatte ER* und das *Glykogen* betreffen. Diese drei Komponenten, die in ihrer Reaktion aufs engste, gewissermaßen in Form einer „Trias“ miteinander verknüpft sind, werden im folgenden nacheinander besprochen. Wir stützen uns dabei im wesentlichen auf die Beobachtungen bei der chronischen TAA-Vergiftung, weil bei der akuten die Veränderungen zu schnell, fast überstürzt ablaufen, so daß eine genaue Erfassung der Dynamik nur schwerlich gelingt.

Verfolgt man das *Ergastoplasma* der läppchenzentral gelegenen Leberzellen während der monatelangen TAA-Vergiftung, so sind in dem kontinuierlichen Ablauf der Strukturveränderungen formal zwei Phasen zu unterscheiden. Die *erste* ist gekennzeichnet durch die „Disorganisation“, d.h. das Ergastoplasma ist nicht mehr schollig angeordnet, sondern diffus über das Cytoplasma verteilt (vgl. auch Abb. 1 c). Dabei weisen die ergastoplasmatischen Membranprofile, die in diesem Stadium strukturell unverändert erscheinen, eine enge räumliche Beziehung zu den Mitochondrien auf, während die freien Ribosomen locker im Cytoplasma verteilt sind. Das Bild hat durchaus etwas Regellostes. Man hat den Eindruck, daß die Umwandlung des Ergastoplasmas von der organisierten in die nicht-organisierte Form im Anfangsstadium lediglich einen Positionswechsel der ergastoplasmatischen Elemente in der Zelle darstellt. Soweit das elektronenmikroskopische Bild eine quantitative Aussage überhaupt gestattet, scheint zu dieser Zeit auch noch keine Reduzierung des Ergastoplasmas einzutreten. Erst im weiteren Verlauf, also in der *zweiten* Phase, erscheinen die ergastoplasmatischen Elemente gelichtet (vgl. auch Abb. 1 e). Sie können dabei — wie in der ersten Phase — strukturell unverändert sein und weiterhin in enger topographischer Beziehung zu den Mitochondrien stehen, sie können bei einem Teil der Zellen aber auch unter Aufhebung des Kontakts zu den Mitochondrien abnorme Formen annehmen (Schlängelung, kleine Ringprofile, Fragmentation) und verminderten, granulären Besatz aufweisen. Diese „fortgeschrittenen“ Ergastoplasma-Veränderungen, die in der normalen Leberzelle unseres Wissens bisher niemals beobachtet wurden, sind möglicherweise als „degenerativ“ im eigentlichen Sinne aufzufassen.

Das gilt zumindest für die Fragmentation; denn diese scheint stets in den endgültigen Zerfall des Ergastoplasmas zu münden.

Es muß betont werden, daß der gesamte, eben geschilderte Prozeß offenbar von Zelle zu Zelle verschieden schnell abläuft — bei der einen innerhalb von Tagen, bei der anderen in Wochen oder Monaten —, daß der Prozeß ebensogut aber auch in irgendeinem Stadium stehenbleiben und sich sogar bis zu einem gewissen Grade trotz unverändert weitergehender TAA-Zufuhr rückläufig entwickeln kann. Diese Unterschiede in der Reaktionsweise der einzelnen Zellen werden in den späteren, besonders in den Cirrhose-Stadien der TAA-Vergiftung besonders deutlich.

Die geschilderten Veränderungen in der Feinstruktur des Ergastoplasmas entsprechen zweifellos der lichtmikroskopisch bekannten Erscheinung der „Chromatolyse“ (OPIE), die bei verschiedenen Einwirkungen auf die Leberzelle zu beobachten ist. Sie beginnt stets mit einer Umwandlung der basophilen Schollen des Cytoplasmas in eine „diffuse Basophilie“ und kann zu einem mehr oder weniger starken Verlust der basophilen Substanzen führen (ALTMANN 1955) (vgl. Abb. 1a, c, e).

Daß eine Übereinstimmung zwischen dem lichtmikroskopischen Phänomen der „diffusen Basophilie“ und dem oben geschilderten elektronenmikroskopischen Phänomen der „Disorganisation“ des Ergastoplasmas besteht, ist schon vor Jahren von BERNHARD et al. 1952 am Beispiel der Hungerleber gezeigt worden. Inzwischen ist diese Tatsache auch bei anderen experimentellen Leberschädigungen [Tetrachlorkohlenstoff (OBERLING und ROUILLER 1956, ROUILLER 1957, MÖLBERT 1957), Phosphor (JEZEQUEL 1958), 3-Methyl-Dimethylaminoazobenzol = 3-Me-DAB = 3-Methyl-Buttergelb (PORTER u. BRUNI 1959)] bestätigt worden. Abgesehen von der zuletzt genannten Untersuchung mit dem Carcinogen 3-Me-DAB, hat es sich dabei jedoch — ebenso wie bei der akuten TAA-Vergiftung unserer Versuchsreihe — meist um sehr kurzfristige Experimente gehandelt, bei denen der Ablauf der Chromatolyse elektronenmikroskopisch, wenn überhaupt, nur in großen Zügen erfaßt werden kann; denn hier koinzidieren Umwandlungs- und Zerfallserscheinungen so sehr, daß sie morphologisch nicht voneinander getrennt werden können. Die chronische TAA-Vergiftung bietet dagegen die Möglichkeit, den Ablauf der Chromatolyse im Detail zu studieren. Wir halten für möglich, daß den beiden, von uns postulierten Phasen der Chromatolyse auch funktionell eine verschiedene Wertigkeit zukommt, etwa in dem Sinne, daß die morphologischen Veränderungen in der — wahrscheinlich nur sehr kurzen — ersten Phase Ausdruck einer Funktionssteigerung des Ergastoplasmas sind, die dann in der — länger dauernden — zweiten Phase einer Funktionsminderung Platz macht.

Hand in Hand mit den geschilderten Veränderungen des Ergastoplasmas kommt es zu einer Ausbreitung des *glatten Endoplasmatischen Reticulums*, sei es, daß es in den Zellen neu auftritt, sei es, daß es lediglich an Ausdehnung zunimmt. Schon bei den Kontrolltieren war eine Beziehung zwischen dem Verhältnis von organisiertem zu nicht-organisiertem Ergastoplasma einerseits und dem Ausmaß des glatten ER andererseits festzustellen. Diese Beziehung wird in der vergifteten Leber noch deutlicher. Während das glatte ER bei den Kontrolltieren in Form eines relativ lockeren Netzwerkes die schmalen Räume zwischen dem nicht-organisierten Ergastoplasma ausfüllt, bildet es in den TAA-geschädigten Zellen häufig umfangreiche, dichte Knäuel, die größere Abschnitte des Cytoplasmas

einnehmen (Abb. 8). Das letztere Erscheinungsbild hat PORTER und BRUNI (bei ihren Untersuchungen mit 3-Me-DAB) veranlaßt, von einer „Hypertrophie“ des glatten ER zu sprechen.

An dieser Stelle sind zwei Phänomene zu erwähnen, die als besondere Erscheinungsform des glatten ER anzusehen sind. Das sind einmal die „*kleinen Netzwerkknäuel*“ (Abb. 7 und 9), die im Schnittbild häufig nicht größer als die Mitochondrien sind und sich von den oben beschriebenen, großen Arealen des Netzwerks vor allem dadurch unterscheiden, daß sie in der Regel von einer (zweischichtigen) Membran umschlossen sind. Bemerkenswerterweise finden sie sich häufig in solchen Zellen, in denen das Ergastoplasma die „fortgeschrittenen“, von uns als degenerativ gedeuteten Veränderungen aufweist (Abb. 7). Ob die Beobachtung dieses Zusammentreffens ausreicht, um die „kleinen Netzwerkknäuel“ ihrerseits als „Degenerationsphänomen“, und zwar des glatten ER, aufzufassen, sei dahingestellt.

Das zweite Phänomen sind die *geschichteten oder gebündelten Membrankomplexe*. Wie die Abb. 10 und 11 erkennen lassen, umfassen sie in der Regel einen Bezirk typischen Netzwerks, dessen vesiculär-tubuläre Strukturen sich kontinuierlich in die konzentrischen Membransysteme hinein fortsetzen. Was die dreidimensionale Gestalt dieser Systeme anbelangt, so könnte diese Beobachtung dafür sprechen, daß es sich in einem Teil der Fälle um Bündel *tubulärer* Strukturen handelt. In anderen Fällen, besonders bei den Membransystemen akut geschädigter Leberzellen, hat man jedoch den Eindruck einer *lamellären* Schichtung. Diese Unterschiede hängen vermutlich mit der jeweils vorliegenden Erscheinungsform des glatten ER zusammen. Häufig finden sich inmitten der Membrankomplexe Mitochondrien, Fetttropfen oder andere Cytoplasmabestandteile. Nach Abb. 11, die, wie wir glauben, einen in Bildung begriffenen Membrankomplex wiedergibt, muß man annehmen, daß diese Cytoplasmabestandteile nicht primär als „Kondensationsorte“ fungieren, sondern lediglich als (zufällige) Einschlüsse aufzufassen sind.

Konzentrische Membransysteme sind in zahlreichen Zellarten unter normalen und pathologischen Bedingungen gefunden worden (WEISS 1953, GAUTIER u. DIOMEDE-FRESA 1953, PALAY und PALADE 1955, FAWCETT und WILSON 1955, HAGUENAU und LACOUR 1955, EPSTEIN 1957, HAGUENAU 1958, FAWCETT und ITO 1958, RUTHMANN 1958, WALKER 1960, REBHUN 1961, HELANDER 1961), wobei diese sicher nicht in allen Fällen streng miteinander vergleichbar sind. Nicht zu bezweifeln ist jedoch die Identität der von uns nach TAA in der Leberzelle nachgewiesenen Membrankomplexe mit denjenigen, die BENEDETTI und EMMELOT (1960) nach Gabe des Lebercarcinogens Dimethylnitrosamin darstellen konnten. Auch hier war der Übergang vom Netzwerk zu den geschichteten Membransystemen unverkennbar.

Wir haben allen Grund anzunehmen, daß die von uns gefundenen Membrankomplexe in engstem Zusammenhang mit den von ALTMANN und OSTERLAND (1961) bei der chronischen TAA-Vergiftung lichtmikroskopisch beobachteten „cytoplasmatischen Wirbelbildungen“ stehen. Wir können diese Annahme zwar noch nicht durch exakte, licht- und elektronenmikroskopische Parallelschnitte belegen, es spricht aber — gerade auch im Hinblick auf die analogen Befunde von BENEDETTI und EMMELOT (1960) — alles dafür, daß diese Wirbel der chronischen TAA-Vergiftung derartige Komplexe konzentrisch angeordneter, glatter Membranen darstellen. Damit würden sich zwei von ALTMANN und OSTER-

LAND ausgesprochene Vermutungen bestätigen, einmal, daß die Wirbelbildungen als eine besondere, gewissen „Nebenkernen“ vergleichbare Formation des glatten (also RNP-freien) ER anzusehen sind, und zum anderen, daß diese Wirbel in den TAA-geschädigten Zellen neu gebildet werden; denn in Leberzellen von Kontrolltieren sind weder von anderen Autoren noch von uns jemals derartige, konzentrisch geschichtete Membrankomplexe gesehen worden. Wenngleich Ursache und Entstehungsmechanismus derselben noch unbekannt sind, so darf man wohl grundsätzlich annehmen, daß ihre Bildung mit der oben erwähnten „Hypertrophie“ des glatten ER in Zusammenhang steht. Es ergibt sich nun die Frage, wie diese Hypertrophie bei der TAA-Vergiftung zustande kommt.

Über die Bedeutung des glatten ER in der Leberzelle stehen sich heute im wesentlichen zwei Auffassungen gegenüber: FAWCETT (1955), BERNHARD und ROUILLER (1956), JEZEQUEL (1958) u. a. bringen das Netzwerk mit der nach Abklingen einer Leberzellschädigung (z. B. bei Wiederfütterung nach Hunger oder nach Abklingen einer Tetrachlorkohlenstoff- bzw. Phosphor-Vergiftung) wieder einsetzenden Neubildung des Ergastoplasmas in Verbindung. Die Autoren gehen dabei von der Vorstellung aus, daß die (glatten) Elemente des Netzwerks durch Anlagerung von Ribosomen an die Außenseite der Membranen zu regelrechten Ergastoplasma-Profilen komplettiert werden. Diese Vorstellung, auf die auch ALTMANN und OSTERLAND zur Erklärung der RNP-freien Cytoplasma-Wirbel zurückgegriffen haben, stützt sich im wesentlichen auf die Beobachtung kontinuierlicher Übergänge zwischen dem Ergastoplasma und dem glatten ER, die auch in unseren Bildern des öfteren zu erkennen sind (Abb. 8).

Bemerkenswerterweise ist an der Realität solcher Übergänge unseres Wissens bisher nicht gezweifelt worden. Das geht schon aus den verschiedenen Theorien bzw. Hypothesen hervor, die an dieses Phänomen geknüpft worden sind [vgl. auch PALADE (1956) bezüglich der Konzeption, das „Endoplasmatische Reticulum“ als einheitliches System anzusehen, das in zwei Formen, einer glatten und einer rauen, in Erscheinung trete]. Wir können auf Grund unseres Bildmaterials nicht grundsätzlich zu dem Übergangs-Phänomen Stellung nehmen, zwei Gesichtspunkte scheinen uns jedoch der Beachtung wert: Bei der üblichen Schnittdicke von 50–90  $\mu$  (PEACHEY 1958, WALTER 1961) und der Breite der Netzwerk-Tubuli von 15–30  $\mu$  besteht prinzipiell die Möglichkeit von Überlagerungen zweier oder mehrerer Membranprofile. Dadurch kann eine echte Verbindung vorgetäuscht werden — ein Vorbehalt, der unseres Erachtens auch für Abb. 3 von PALADE (1956) und Abb. 9 von PORTER und BRUNI (1959) gilt. Zum anderen bereitet die Vorstellung, daß es sich hierbei um die Kommunikation zwischen *schlauchförmigen* Gebilden (des Netzwerks) und *lamellenförmigen* Säcken (des Ergastoplasmas) handeln müßte, eine gewisse Schwierigkeit; denn *tubuläre* ergastoplasmatische Elemente, mit denen die Kommunikation der — ebenfalls tubulären — Netzwerkstrukturen ohne weiteres denkbar wäre, werden gerade in der Leberzelle so gut wie nie beobachtet.

Die andere Auffassung stammt von PORTER und BRUNI (1959), die anlässlich ihrer Untersuchungen an der 3-Me-Buttergelb-Leber darauf hingewiesen haben, daß das Netzwerk auch bei reinem Hunger (also ohne Wiederfütterung), ja sogar bei einer großen Zahl normaler Leberzellen regelmäßig zu beobachten ist. Diese Autoren bringen den Wechsel in der Ausbildung des glatten ER mit den Veränderungen des Glykogengehaltes der Leberzelle in Verbindung, gestützt auf den Befund, daß erstens das glatte ER mit Vorliebe innerhalb von Glykogenzonen zu finden ist, und daß zweitens eine Parallele zwischen dem Ausmaß des Glykogenschwundes und der Entwicklung des glatten ER besteht. Sie nehmen daher an, daß das Netzwerk für die Glykogenolyse und Glykogenese von entscheidender

Bedeutung sei. MILLONIG und PORTER (1960) haben diese Ansicht durch weitere Beobachtungen, und zwar an der Hungerleber, zu untermauern versucht. In die gleiche Richtung könnten auch kürzlich mitgeteilte Befunde von ROUILLE et al. (1961) weisen, die in der Mikrosomenfraktion, welche speziell die Membranen des glatten ER der Leberzelle enthält, neben anderen Fermenten das in den Kohlenhydratstoffwechsel eingreifende Ferment Glucose-6-Phosphatase nachweisen konnten. In Verfolgung der von PORTER und BRUNI vertretenen Anschauung über die Wechselbeziehung zwischen glattem ER und Glykogenstoffwechsel interpretieren MILLONIG und PORTER die oben erwähnten Übergänge zwischen Ergastoplasma und glattem ER in ganz anderer, nämlich genau umgekehrter Weise: Sie nehmen an, daß das glatte ER vom Ergastoplasma gebildet werde, und zwar in der Form, daß von den Enden der Ergastoplasmaprofile die glatten Elemente des Netzwerkes gewissermaßen aussprossen, eine Auffassung, der wir uns auf Grund eigener Beobachtungen, welche für die Bildung des glatten ER aus der cytoplasmatischen Matrix heraus sprechen (vgl. ROUILLE 1957, JEZEQUEL 1958), nicht anschließen können.

Prüfen wir unsere Ergebnisse unter den eben ausgeführten Gesichtspunkten, so ist zunächst festzustellen, daß wir die Befunde von PORTER und BRUNI (1959) über die Wechselbeziehung zwischen Glykogengehalt und Ausbildung des glatten ER an unserem Material sowohl bei den Kontroll- wie bei den TAA-behandelten Tieren bestätigen können. Wie früher schon GUPTA (1956), RÜTTNER und RONDEZ (1959), SACHS et al. (1959), SPAIN und GRIFFIN (1957), GEORGII und MEHNERT (1961) u. a. gezeigt haben, kommt es bei der TAA-Vergiftung in den Läppchenzentren, und zwar in strenger örtlicher und zeitlicher Relation zu den übrigen Phänomenen der TAA-Schädigung, zu einem praktisch totalen *Glykogenschwund* (Abb. 1d und f), der sich gleichermaßen im licht- wie im elektronenmikroskopischen Bild zu erkennen gibt. In der Tat nimmt das Netzwerk in den Anfangsstadien häufig die ehemals glykogenhaltigen Zonen ein. Später, mit zunehmend diffuser Anordnung des disorganisierten Ergastoplasmas, geht dieser Verteilungsmodus etwas verloren, und das Netzwerk liegt dann vorwiegend, wenn auch nicht ausschließlich, in der Zellperipherie, ein Verhalten, das FAWCETT (1955) auch bei der Hungerleber nach Wiederfütterung festgestellt hat.

Die Parallele zwischen unseren Befunden an der TAA-Leber und denjenigen von PORTER und BRUNI (1959) an der 3-Methyl-Buttergelb-Leber ist so auffallend, daß es naheliegt, den Vorstellungen dieser Autoren folgend, auch in der TAA-geschädigten Leberzelle die Vermehrung des glatten ER unmittelbar mit der Veränderung des Glykogengehaltes in Verbindung zu bringen. Man müßte dann annehmen, daß TAA in der Leberzelle, auf welchem Wege auch immer, eine nachhaltige Störung des Kohlenhydratstoffwechsels veranlaßt, die eine (kompensatorische?) Vermehrung des glatten ER mit sich bringt. Unter dieser Voraussetzung wären die cytoplasmatischen Wirbelbildungen der Ausdruck einer übersteigerten Entwicklung des glatten ER, die der Bereitstellung von membranösen Trägerstrukturen für bestimmte Fermente des Kohlenhydratstoffwechsels dient. Wie dem auch sei, sie haben jedenfalls mit den echten „ergastoplasmatischen“ Nebenkernen (HAGUENAU 1958) die Anordnung der Membranen gemein, sind jedoch morphologisch von ihnen klar unterscheidbar, was unseres Erachtens auch in der Nomenklatur zum Ausdruck kommen sollte. Es erscheint uns daher

besser, die hier besprochenen Membransysteme nicht, wie BENEDETTI und EMMELOT (1960) es tun, als „Nebenkerne“ schlechthin, sondern mit ALTMANN und OSTERLAND (1961) zumindest als „RNP-freie Nebenkerne“ oder, einfacher und zugleich exakter, als „*glatte Nebenkerne*“ zu bezeichnen.

Gegenüber der — zweifellos gut fundierten — Auffassung von PORTER und BRUNI (1959) muß man allerdings bedenken, daß die beiden Hauptargumente, die dafür angeführt werden — die topographische Beziehung zwischen Glykogen und glattem ER und das Parallellaufen von Glykogenschwund und Vermehrung des glatten ER — nur Indizienbeweise darstellen. Vor allem im Hinblick auf das zweite Argument erscheint es uns wichtig, darauf hinzuweisen, daß mit dem Glykogen und dem glatten ER auch das *Ergastoplasma* parallel gerichtete Veränderungen erfährt. Es ist nach unserem Dafürhalten von grundsätzlicher Bedeutung, daß sowohl nach Hunger als auch nach 3-Methyl-DAB und nach TAA — und das gilt mit großer Wahrscheinlichkeit ebenso für eine Reihe anderer Leberschädigungen, z. B. auch nach Dimethylnitrosamin (EMMELOT und BENEDETTI (1961) — die drei Komponenten: *Ergastoplasma* — *Glatte ER* — *Glykogen* stets gleichzeitig in Reaktion treten. Aus dieser Trias haben PORTER und BRUNI besonderen Wert auf den Komplex: glattes ER — Glykogen gelegt, während die früheren Untersucher (FAWCETT 1955, BERNHARD u. ROUILLER 1956, ROUILLER 1957) mehr die Beziehung: Ergastoplasma — glattes ER betont haben. Das darf jedoch nicht darüber hinwegtäuschen, daß in jedem Falle auch die dritte Komponente im Spiele war, die bei den verschiedenen Betrachtungsweisen zwar nicht unberücksichtigt geblieben, aber doch zugunsten der beiden anderen etwas in den Hintergrund getreten ist. Nur so sind unseres Erachtens die unterschiedlichen Interpretationen eines in den Grundzügen gleichartigen, morphologischen Befundes zu erklären.

Aus all dem erhellt die Schwierigkeit, bei dem heutigen Stand der Kenntnisse zu einer klaren und zweifelsfreien Auffassung über die formale Stellung und mehr noch über die funktionelle Bedeutung des glatten ER in der Leberzelle zu gelangen. Dies wiederum macht verständlich, daß die Frage nach den Ursachen für die Hypertrophie des glatten ER — und damit auch für die Wirbelbildung — bei der TAA-Vergiftung zur Zeit nicht endgültig entschieden werden kann. Entweder ist sie die direkte Folge der Ergastoplasmastörung — dann wäre sie mehr oder weniger unabhängig vom Glykogenschwund und die Wirbelbildungen dürften als Sonderform der „ergastoplasmatischen Nebenkerne“ angesehen werden, oder sie steht in ursächlichem Zusammenhang mit dem Glykogenschwund — dann wäre sie höchstens indirekt mit den Veränderungen des Ergastoplasmas verknüpft und die konzentrischen Membransysteme hätten mit den echten „ergastoplasmatischen“ Nebenkernen, von der äußeren Ähnlichkeit abgesehen, nichts zu tun. Unter dem Eindruck der Befunde von PORTER und BRUNI, MILLONIG und PORTER, ROUILLER et al. neigen wir vorerst zu der letzteren Ansicht. In allen Fällen jedoch, in denen die Leberzelle auf eine Noxe mit der „Trias“: Ergastoplasma — glattes ER — Glykogen in der besprochenen Weise reagiert, in denen also der Eiweißstoffwechsel (Ergastoplasma!) und der Kohlenhydratstoffwechsel (Glykogen!) *gleichzeitig* betroffen sind, dürfte eine Entscheidung dieser Frage nur schwer oder überhaupt nicht möglich sein; denn das morphologische Bild gibt keine Auskunft darüber, ob innerhalb der Trias eine Komponente das Primat hat und die beiden



anderen nach sich zieht und, wenn ja, auf welche Weise dann die Glieder dieser Kette kausal miteinander verknüpft sind. Von der Klärung dieser Frage, also von der Aufschlüsselung der Trias im eben genannten Sinne, sind weitere Einblicke in den Wirkungsmechanismus nicht nur des TAA, sondern auch anderer, cirrhogen und/oder carcinogen wirkender Lebergifte zu erwarten.

### Zusammenfassung

Nach akuter und chronischer Thioacetamid (TAA)-Vergiftung treten im Cytoplasma der Leberzellen im wesentlichen folgende morphologische Veränderungen auf:

1. Das *Ergastoplasma* wird im Zuge der „Chromatolyse“ disorganisiert und quantitativ verringert oder gar — vor allem bei kurzfristiger, höherdosierter TAA-Gabe — vollständig aufgelöst.

2. Das *glatte Endoplasmatische Reticulum (ER)* nimmt an Ausdehnung zu und bildet des öfteren wirbelartige, konzentrisch geschichtete oder gebündelte Membrankomplexe (sog. „glatte Nebenkerne“).

3. Das Glykogen schwindet.

Diese drei cytoplasmatischen Komponenten reagieren gleichzeitig. Es kann daher nicht endgültig entschieden werden, ob die starke Vermehrung des glatten ER auf eine Störung des vom Ergastoplasma getragenen Eiweißstoffwechsels oder des Kohlenhydratstoffwechsels zu beziehen ist. Die letztere Ansicht wird entsprechend den Vorstellungen von PORTER und BRUNI vorerst für wahrscheinlicher gehalten.

Die cytoplasmatischen Veränderungen der TAA-Vergiftung sind mit denen anderer experimenteller Leberschädigungen (Hunger, 3-Methyl-DAB, Dimethylnitrosamin) prinzipiell vergleichbar. Im Hinblick auf den Wirkungsmechanismus der erwähnten cirrhogenen und carcinogenen Substanzen erlaubt das morphologische Bild als solches keine Entscheidung darüber, ob eine und gegebenenfalls welche Komponente innerhalb der „Trias“ — Ergastoplasma, glattes ER, Glykogen — die führende Rolle spielt.

### Summary

After acute and chronic poisoning with thioacetamide (TAA) the following morphologic changes appear in the cytoplasm of hepatic cells:

1. The *ergastoplasm* becomes disorganized, in the sense of chromatolysis, and quantitatively diminished, or even completely dissolved, especially after short-termed high doses of TAA.

2. The *smooth endoplasmic reticulum (ER)* further expands and frequently forms spiralled, concentrically layered or bundled membrane-complexes (socalled „smooth Nebenkerne“).

3. The glycogen disappears.

These three cytoplasmic components react simultaneously. Consequently, it cannot be decided, whether the great increase in the smooth ER is related to a disturbance of the protein metabolism, which is sustained by the ergastoplasm, or whether it is related to the carbohydrate metabolism. The latter, agreeing with the concepts of PORTER and BRUNI, is considered as the more likely.

The cytoplasmic changes of the TAA poisoning are essentially comparable with those of other experimentally induced hepatic damage (in hunger, 3-methyl-DAB, di-methyl-nitrosamine poisoning). In regards to the mechanism of action of the carcinogenic and cirrhosis-inducing substances mentioned, the morphologic picture does not permit any conclusions as to whether one and eventually which component of the three — ergastoplasm, smooth ER, or glycogen, — plays the dominant role.

### Literatur

- ALTMANN, H. W.: Allgemeine morphologische Pathologie des Cytoplasmas. Die Pathobiosen. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/1, S. 419—612. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955.
- , u. U. OSTERLAND: Über cytoplasmatische Wirbelbildungen in den Leberzellen der Ratte bei chronischer Thioacetamidvergiftung. Beitr. path. Anat. **124**, 1—18 (1961).
- BECKER, V.: Experimentelle Lebercirrhose durch mutmaßliche Schädigung des Ribonucleinsäurestoffwechsels. Zbl. allg. Path. path. Anat. **100**, 362 (1959).
- BENEDETTI, E. C., and P. EMMELLOT: Changes in the fine structure of rat liver cells brought about by Dimethylnitrosamine. Proc. Europ. Reg. Conf. on Electron Microscopy, Delft 1960, Vol. II, pp. 875—878.
- BERNHARD, W., F. HAGUENAU, A. GAUTIER et CH. OBERLING: La structure submicroscopique des éléments basophiles cytoplasmique dans le foie, le pancreas et les glandes salivaires. Z. Zellforsch. **37**, 281—300 (1952).
- , and C. ROUILLER: Close topographical relationship between mitochondria and ergastoplasm of liver cells in a definite phase of cellular activity. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, (Suppl.), 73—78 (1956).
- BIRBECK, M. S. C., and E. H. MERCER: Cytology of cells which synthesize protein. Nature **189**, 558—560 (1961).
- BRAUNSTEINER, U., K. FELLINGER u. F. PAKESCH: Elektronenmikroskopische Beobachtungen an normalen Leberschnitten sowie nach Gallestauung, Histamin- und Allylformiatvergiftung. Z. ges. exp. Med. **121**, 254—265 (1953).
- BRODEHL, J.: Thioacetamid in der experimentellen Leberforschung. Klin. Wschr. **39**, 956 bis 962 (1961).
- BROWN, D. B., C. J. DELOR, M. GREIDER and W. J. FRAJOLA: The electron microscopy of human liver. Gastroenterology **32**, 103—115 (1957).
- CAULFIELD, J. B.: Effects of varying the vehicle for  $\text{OsO}_4$  in tissue fixation. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 827—830 (1957).
- DALTON, A. Z., H. KAHLER, M. J. STRIEBICH and B. LLOYD: Finer structure of hepatic, intestinal and renal cells of the mouse as revealed by the electron microscope. J. nat. Cancer Inst. **11**, 439—461 (1950).
- EMMELOT, P., and E. L. BENEDETTI: Some observations on the effect of liver carcinogens on the fine structure and function of the endoplasmic reticulum of rat liver cells. In R. J. C. HARRIS, Protein synthesis, pp. 99—123. London and New York 1961.
- EPSTEIN, M. A.: The fine structure of the cells in mouse sarcoma 37 ascitic fluid. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 567—576 (1957).
- FAWCETT, D. W.: Observations on the cytology and electron microscopy of hepatic cells. J. nat. Cancer Inst. **15**, 1475—1488 (1955).
- , and S. ITO: Observation on the cytoplasmic membranes of testicular cells examined by phase contrast and electron microscopy. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 135—142 (1958).
- , and J. W. WILSON: A note on the occurrence of virus like particles in the spontaneous hepatoma of C3H-mice. J. nat. Cancer Inst. **15** (Suppl.), 1505—1511 (1955).
- FITZHUGH, O. G., and A. A. NELSON: Liver tumors in rats fed thiourea or thioacetamide. Science **108**, 626—628 (1948).
- GAUTIER, A., et V. DIOMEDE-FRESA: Étude au microscope électronique de l'ergastoplasm des glandes salivaires du rat. Mikroskopie **8**, 23—31 (1953).

- GEORGI, A., u. H. MEHNERT: Über Leberveränderungen durch Thioacetamid bei gleichzeitiger Belastung mit blutzuckersenkenden Substanzen. *Beitr. path. Anat.* **124**, 278—294 (1961).
- GUPTA, D. N.: Nodular cirrhosis and metastasing tumors produced in the liver of rats by prolonged feeding with thioacetamide. *J. Path. Bact.* **72**, 415—426 (1956a).
- Acute changes in the liver after administration of thioacetamide. *J. Path. Bact.* **72**, 183—192 (1956b).
- HAGUENAU, F.: The ergastoplasm. Its history, ultrastructure and biochemistry. *Int. Rev. Cytol.* **7**, 425—438 (1958).
- , et F. LACOUR: Cytologie électronique de tumeurs hypophysaires expérimentales; leur appareil des Golgi. Symposium on fine structure of cells. Groningen 1955, pp. 316—321.
- HANZON, V.: Hypoxic vacuolization of the liver cell. *Proc. Europ. Conf. on Electron Microscopy*, Delft 1960, Vol. II, pp. 903—906.
- HELANDER, H. F.: A preliminary note on the ultrastructure of the argyrophile cells of the mouse gastric mucosa. *J. Ultrastruct. Res.* **5**, 257—262 (1961).
- HOLLE, G.: Die gegenwärtigen Vorstellungen über den Feinbau der Leber. *Acta hepatosplen.* **8**, 253—264 (1961).
- HOWATSON, A. F., and A. W. HAM: The fine structure of cells. *Canad. J. Biochem.* **35**, 549—564 (1957).
- HÜBNER, G., u. W. BERNHARD: Das submikroskopische Bild der Leberzelle nach temporärer Durchblutungssperre. *Beitr. path. Anat.* **125**, 1—30 (1961).
- IZARD, J.: L'hépatocyte humain normal et pathologique. Paris 1960.
- JEZEQUEL, A. M.: Les effets de l'intoxication aigue au phosphor sur le foie de rat. Étude au microscope électronique. *Ann. anat. path.* **3**, 512—537 (1958).
- KELLENBERGER, F., F. SCHWAB et A. RYTER: L'utilisation d'un copolymère du groupe des polyesters comme matériel d'inclusion en ultramicrotome. *Experientia (Basel)* **12**, 421—422 (1956).
- KLEINFELD, R. G.: Early changes in rat liver and kidney cells induced by thioacetamide. *Cancer Res.* **17**, 954—962 (1957).
- MILLONIG, G., and K. R. PORTER: Structural elements of rat liver cells involved in glycogen metabolism. *Proc. Europ. Reg. Conf. on Electron Microscopy*, Delft 1960, Vol. II, pp. 655—659.
- MÖLBERT, E.: Das elektronenmikroskopische Bild der Leberparenchymzelle nach histotoxischer Hypoxidose. *Beitr. path. Anat.* **118**, 203—227 (1957).
- NOVIKOFF, A. B., and E. ESSNER: The liver cell. *Amer. J. Med.* **19**, 102—131 (1960).
- OBERLING, CH., et CH. ROUILLER: Les effets de l'intoxication aigue au tetrachlorure de carbone sur le foie du rat. Étude au microscope électronique. *Ann. anat. path., N.S.* **1**, 401—427 (1956).
- OFIE, E. L.: Mobilisation of basophile substance (ribonucleic acid) in the cytoplasm of liver cells with the production of tumors by butter yellow. *J. exp. Med.* **84**, 91—106 (1946).
- PALADE, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. *J. exp. Med.* **95**, 285—289 (1952).
- The endoplasmic reticulum. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, (Suppl.), 85—98 (1956).
- PALAY, S. L., and G. E. PALADE: The fine structure of neurons. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 69—88 (1955).
- PEACHEY, L. D.: Thin sections I: A study of section thickness and physical distortion produced during microtomy. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 233—242 (1958).
- PORTER, K. R., and C. BRUNI: An electron microscope study of the early effects of 3'-Me-DAB on rat liver cells. *Cancer Res.* **19**, 997—1009 (1959).
- RATHER, L. J.: Experimental alterations of nuclear and cytoplasmic components of the liver cell with thioacetamide. I. Early onset and reversibility of volume changes of the nucleolus, nucleus and cytoplasm. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **88**, 35—58 (1951).
- REBHUN, L.: Some electron microscope observations on membranous basophilic elements of invertebrate eggs. *J. Ultrastruct. Res.* **5**, 208—225 (1961).
- ROUILLER, C.: Contribution de la microscopie électronique à l'étude normale du foie et pathologique. *Ann. anat. path.* **2**, 548—562 (1957).

- ROUILLER, CH., Y. MOULÉ u. J. CHAUVÉAU: Biochemische und morphologische Untersuchung der Mikrosomen der Rattenleber. Tagg Dtsch. Ges. Elektr. Mikroskopie, Kiel 1961.
- RÜTTNER, J. R., u. R. RONDEZ: Zur formalen Genese der Thioacetamidcirrhose der Ratte. *Pathologia et Microbiol.* **23**, 113—119 (1960).
- RUTHMANN, A.: Basophilic lamellar systems in the Crayfish spermatocyte. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 267—274 (1958).
- SACHS, H. W., A. BAUMER u. G. MENKHAUS: Histochemische Untersuchungen zur Giftwirkung des Thioacetamids auf die Rattenleber. *Acta hepato-splen.* **6**, 286—298 (1959).
- SCHMIDT, F.-C.: Ergastoplasma. *Dtsch. med. Wschr.* **86**, 1823—1830 (1961).
- SIMON, G., u. CH. ROUILLER: Akute Intoxikation durch Thioacetamid (erste Ergebnisse). Tagg Dtsch. Ges. Elektr. Mikroskopie, Kiel 1961.
- SJÖSTRAND, F. S.: The ultrastructure of the outer segments of rods and cones of the eye as revealed by electron microscope. *J. cell comp. Physiol.* **42**, 25—31 (1953).
- SPAIN, J. D., and A. C. GRIFFIN: A histochemical study of glycogen alterations in the livers of rats following azo dye administration. *Cancer Res.* **17**, 200—204 (1957).
- THOENES, W.: Giemsa-Färbung an Geweben nach Einbettung in Polyester ("Vestopal") und Methacrylat. *Z. wiss. Mikr.* **64**, 406—413 (1960).
- WALKER, B. E.: Electron microscopic observations on transitorial epithelium of the mouse urinary bladder. *J. Ultrastruct. Res.* **3**, 345—361 (1960).
- WALTER, F.: Ultramikrotomie. *Leitz-Mitt.* **1**, 236—243 (1961).
- WATSON, M. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 727—730 (1958).
- WEISS, J. M.: The ergastoplasm. Its fine structure and relation to protein synthesis as studied with the electron microscope in the pancreas of the swiss albino mouse. *J. exp. Med.* **98**, 607—618 (1953).

*Nachtrag bei der Korrektur:* Inzwischen durchgeführte Untersuchungen über die Rückbildung der TAA-bedingten Cytoplasmaveränderungen (siehe THOENES, W., *Verh. Dtsch. Ges. Path.*, 46. Tagg., 1962) haben ergeben, daß das glatte ER bei Absetzen der Noxe — wenigstens zu einem Teil — in rauhes ER (=Ergastoplasma) umgewandelt wird. Daraus ergeben sich Zweifel an der Richtigkeit der von PORTER u. Mitarb. vertretenen Auffassung über die ausschließliche Beziehung des glatten ER zum Glykogenstoffwechsel. Die obengeäußerte Vermutung, daß die Hypertrophie des glatten ER, einschließlich der Bildung „glatter Nebekerne“, ursächlich mit der *Ergastoplasma*-Störung zusammenhängen könne, gewinnt damit an Wahrscheinlichkeit.

Dr. W. THOENES,  
Pathologisches Institut der Universität, Würzburg,  
Luitpoldkrankenhaus