

Zur Morphogenese der eosinophilen Einzelzellnekrose im Leberparenchym des Menschen

Eine licht- und elektronenoptisch korrelierte Untersuchung

J. MOPPERT*, D. v. EKESPARRE** und L. BIANCHI

Ludwig-Aschoff-Haus, Pathologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. med. H. U. ZOLLINGER)

Eingegangen am 10. Dezember 1966

The Morphogenesis of Eosinophilic Necrosis in Single Parenchymal Cells of the Human Liver

Correlation of Light and Electron Microscopic Studies

Summary. The different forms of acidophilic alterations of single liver cells (acidophilic degeneration, acidophilic necrosis, and Councilman-like bodies) in liver tissue of patients with viral hepatitis were studied by light and electron microscopy. These alterations represent different development stages of cytoplasmic coagulation necrosis of parenchymal liver cells. In the early stages of acidophilic degeneration condensation and reduction of the cytoplasmic ground substance are the major findings. Alterations of the nucleus and the cytoplasmic organelles seem to be secondary. These facts, among other things, lead to a wider understanding of the loss of cytoplasmic basophilia. Depending upon the intensity of the cytoplasmic coagulation, the further alterations in the acidophilic parenchymal cell come about in different ways, proliferated histiocytes always playing an important part. The cells either break up quickly and are digested, or they are transformed into acidophilic bodies and then slowly disintegrate.

Zusammenfassung. Die verschiedenen Formen eosinophiler Einzelzellveränderungen (eosinophile Degeneration, Nekrose und eosinophile Körper) wurden in Leberpunktaten von Patienten mit frischer Hepatitis epidemica licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Diese Veränderungen stellen tatsächlich verschiedene Entwicklungsstadien der Coagulationsnekrose von Leberepithelzellen dar, was in letzter Zeit umstritten war. In Frühstadien stellt elektronenoptisch eine Verdichtung und Rarifizierung des gesamten Grundcytoplasmas den Hauptbefund dar. Veränderungen an Kern und Mitochondrien scheinen sekundär. Daraus resultiert u. a. eine Erweiterung der bisherigen Vorstellung vom Verlust der cytoplasmatischen Basophilie. Je nach Intensität der nekrobiotischen Umwandlung eosinophil degenerierter Epithelzellen erfolgt der weitere Abbau unterschiedlich, wobei jedoch stets proliferierte Histiocyten beteiligt sind. Die Zelle wird entweder rasch zerlegt oder vorerst zum eosinophilen Körper umgeformt und langsam abgebaut.

Einleitung

Degenerative Einzelzellveränderungen mit verstärkter Eosinophilie des Cytoplasmas, Kernpyknose oder Kernverlust treten im Leberparenchym unter anderem bei verschiedenen Virusinfekten, toxischen Schädigungen oder experimentellen Kreislaufstörungen gehäuft auf. Morphologisch lassen sich dabei die eosinophile Degeneration, die eosinophile Einzellnekrose und die meist außerhalb der Leberepithelplatten liegenden eosinophilen oder roten (AXENFELD und BRASS, 1943)

* Stipendiat der Forschungskommission der Universität Basel (1966) und des Schweizerischen Nationalfonds (1965).

** Wesentliche Teile der vorliegenden Arbeit werden von Frl. v. EKESPARRE als Dissertation der medizinischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br. vorgelegt.

Körper, englisch auch „Councilman-like“ bodies, unterscheiden (BIANCHI, 1967). Diese Formen stellen für die meisten Autoren verschiedene Entwicklungsstadien dar, die von der Leberepithelzelle während der Coagulationsnekrose durchlaufen werden sollen. In den letzten Jahren wurden aber wiederholt die eosinophilen Körper auch als degenerierte Kupffersche Sternzellen angesehen (JONES und COHEN, 1962; RUEBNER und MIYAI, 1962). Widersprüchlich sind ferner die Beschreibungen der elektronenoptisch faßbaren Frühveränderungen. Eine entsprechende licht- und elektronenoptisch korrelierte Untersuchung erschien daher berechtigt.

Material und Methodik

Zur Verfügung standen uns Leberbiopsien von Patienten der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br., bei denen auf Grund klinischer Befunde und eines ersten Leberpunktates die Diagnose auf akute ikterische Hepatitis epidemica lautete¹. Verarbeitung: Unmittelbare Fixation in Glutaraldehyd (6,25 %, bei 4°C) mit Veronalpuffer für 2–4 Std. Anschließend Waschen in Veronalpuffer und Nachfixation in gepuffertem 1 % OsO₄. Nach Entwässerung Einbettung in Epon. Um eine gegebene Zelle licht- und elektronenoptisch untersuchen zu können, wurden Serien direkt aufeinanderfolgender Schnitte unterschiedlicher Dicke an einem LKB-Ultramikrotom hergestellt, sogenannte semidünne für das Licht-, ultradünne für das Elektronenmikroskop. Färbung von Semidünnschnitten mit Azur-Methylenblau sowie mit Paragon-1301 (MARTIN et al., 1966) zur Beurteilung der cytoplasmatischen Eosinophilie, Kontrastierung der Ultradünnschnitte mit Bleihydroxyd. Die Auswertung erfolgte, bei ständiger lichtoptischer Kontrolle, mit dem Elektronenmikroskop Zeiss EM9. Auf diese Weise wurden fünf der genannten Leberpunktate ausgewertet.

Ergebnisse

1. Eosinophile Degeneration. Eosinophil degenerierte Leberepithelien erscheinen lichtoptisch vielzipfelig mit meist konkaven Zellgrenzen. Ihr Cytoplasma ist verdichtet und verstärkt eosinophil, der Kern homogenisiert, dunkel (Abb. 1a, 2a). Elektronenoptisch besteht die charakteristische Veränderung in einer Rarefizierung und gleichmäßigen Verdichtung des gesamten Grundcytoplasmas bei dicht gepackten Organellen (Abb. 1b, 2b). Die entsprechenden Zellen scheinen, wohl infolge Turgorverlustes, von den benachbarten, meist durch ausgesprochen helles Grundcytoplasma ausgezeichneten Epithelien eingedellt zu werden. Da in diesem Stadium die desmosomalen Haftflächen noch intakt sind, kommt es zu der typisch sternförmig ausgezogenen Gestalt (Abb. 1a u. b). Am Kern fallen eine gewellte innere und äußere Membran sowie eine homogen-feinstkörnige Matrix auf (Abb. 2b). Chromatinstrukturen sind kaum mehr nachweisbar. Dabei hinkt die Intensität der Veränderung des Kerns immer etwas hinter derjenigen des Cytoplasmas nach. Die Organellen des Cytoplasmas dagegen sind oft vollkommen unverändert (Abb. 1c). Bestehen jedoch bereits Zeichen der Ablösung der Zelle aus dem Parenchymverband, so finden sich vor allem geschwollene Mitochondrien mit Aufhellung und unregelmäßiger Flockung ihrer Matrix, ferner eine Vesiculation einzelner Ergastoplasmaabschnitte (Abb. 2b u. c).

Verfolgt man das weitere Schicksal eosinophil degenerierter Leberepithelzellen, so finden sich zwei unterschiedliche Abbauewege, die im folgenden gesondert besprochen werden.

¹ Herrn Dozent Dr. K. BECK und seinen Mitarbeitern sind wir für die Überlassung der Punktate zu großem Dank verpflichtet.

2a. Einzelzellnekrosen mit weitgehend erhaltener Ultrastruktur. Lichtoptisch, im Semidünnschnitt, sind dies unregelmäßig begrenzte, meist längliche Gebilde mit stark verdichtetem, eosinophilem, oft feinstvacuolärem Cytoplasma. Der Kern ist,

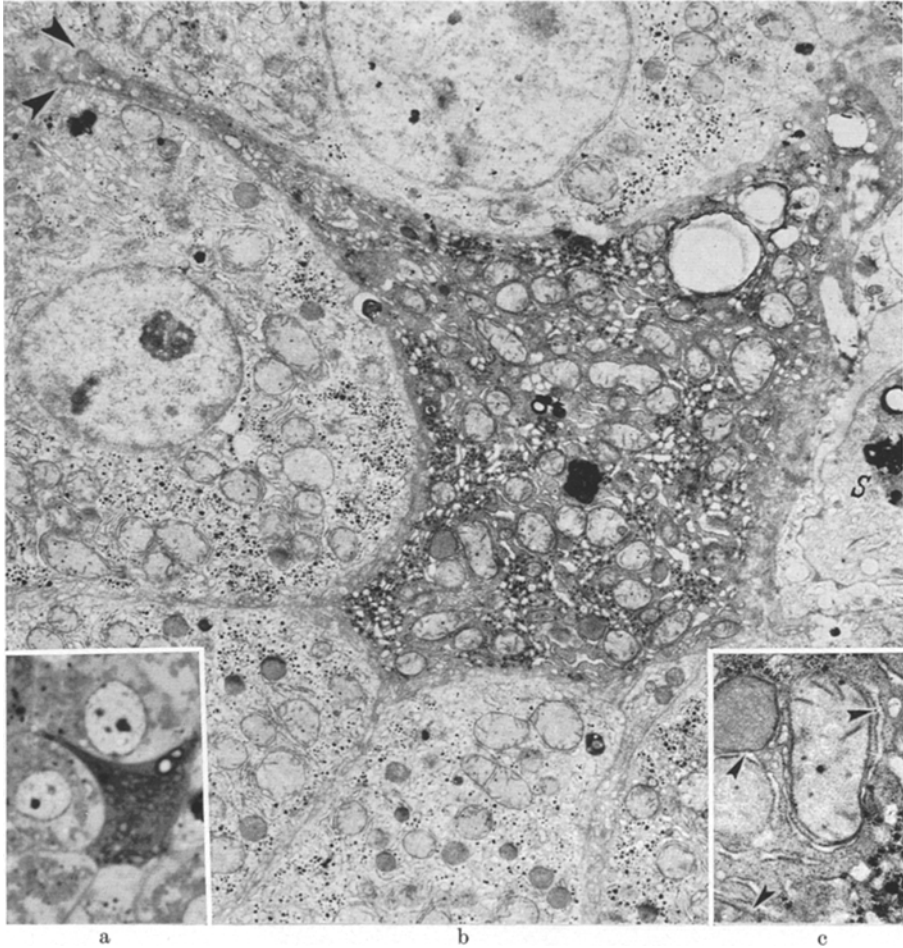


Abb. 1. a Eosinophil degenerierte Leberepithelzelle mit typisch vielzipfliger Kontur und verstärkt eosinophilem Cytoplasma (1150 \times). b Dieselbe Zelle elektronenoptisch: Homogene Verdichtung und Volumenreduktion des gesamten Grundcytoplasmas, Desmosomen intakt (Pfeile). Organellen zusammengerückt morphologisch völlig unverändert. (Beachte in Ausschnitt 1c vor allem den erhaltenen Ribosomenbesatz des Ergastoplasmas.) Umgebende Leberepithelzellen weisen ein aufgehelltes Grundcytoplasma auf. S Sinusoid mit Kupfferscher Sternzelle. (5520 \times)

soweit vorhanden, pyknotisch. Diese Zellen stehen bisweilen noch in losem Kontakt mit angrenzenden Epithelsträngen, meistens liegen sie jedoch, von proliferierten Histiocyten umgeben, im Sinusoidraum (Abb. 3a). Elektronenoptisch erscheinen sie als Ganzes sehr dicht. Die Membranen im Bereiche von Kern, Zellwand, Mitochondrien und endoplasmatischem Reticulum sind abschnittsweise verwaschen oder über kurze Strecken nicht mehr nachweisbar. Trotzdem lassen sich die einzel-

nen Organellen fast durchwegs erkennen. Bei den Mitochondrien fällt die mehrheitlich verdichtete Matrix auf, daneben finden sich einzelne abnorm geblähte und aufgehellte Formen. Diese stellen das Äquivalent der feinen cytoplasmatischen Vacuolen

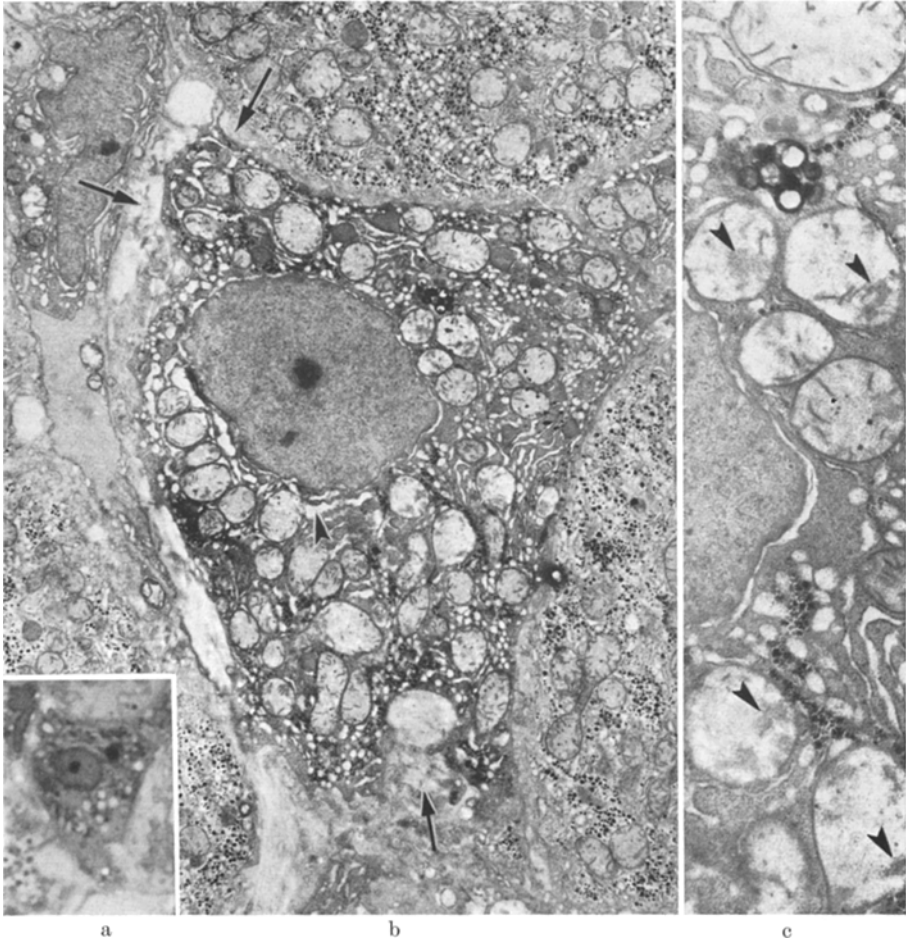


Abb. 2. a Eosinophil degenerierte Leberepithelzelle, lichtoptisch wie Abb. 1a (1150 \times). b Elektronenoptisch neben der Verdichtung des Grundcytoplasmas, hier nun Zeichen der beginnenden Ablösung aus dem Epithelverband (große Pfeile), partielle Vesiculation des Ergastoplasmas (kleiner Pfeil), ferner Schwellung und Aufhellung von Mitochondrien. Homogene, feinstkörnige Kernmatrix (5100 \times). c (Detail) Geschwollene Mitochondrien mit unregelmäßigen Verdichtungen in der aufgehellten Matrix. (15400 \times)

im Lichtmikroskop dar. Cristae und Grana der Mitochondrien fehlen teilweise. Die Membranen des Ergastoplasmas erscheinen oft näher zusammengedrückt, die Innenräume nunmehr verdichtet. Die außen anhaftenden Ribosomen sind im dunklen Grundcytoplasma schwer auszumachen. In helleren Bezirken der Zelle findet sich feinstkörniges, elektronendichtes Material, das sich dank der oft weitgehend erhaltenen rosettenförmigen Anordnung als Glykogen klassifizieren läßt. Reste von glattem endoplasmatischem Reticulum sind dagegen in diesen Arealen kaum mehr

nachzuweisen. Das periphere, der Zellwand anliegende Cytoplasma erscheint oft bandförmig homogenisiert, die Zellmembran selbst über diesen Abschnitten meist noch deutlich strukturiert (Abb. 3b). Soweit diese Elemente nicht noch mit den

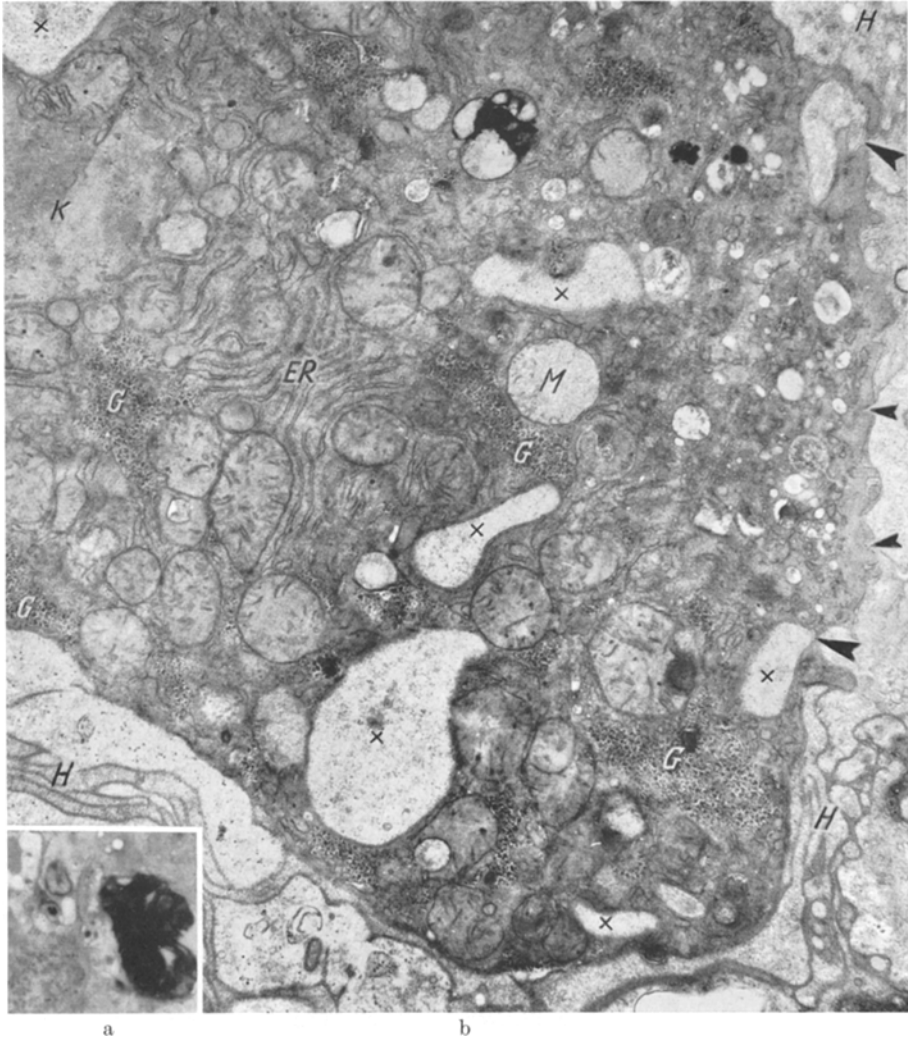


Abb. 3. a Eosinophile Einzelzellnekrose, lichtoptisch dunkel, stark eosinophil. Begrenzung unregelmäßig ($800\times$). b Elektronenoptisch: Organellen weitgehend erkennbar (*K* Kern, *G* Glykogenareale, *ER* Ergastoplasma, *M* Mitochondrium mit aufgehellter Matrix). Kleine Pfeile: Bandförmige Homogenisierung des peripheren Cytoplasmas. Histiocyten (*H*) umschließen allseits die nekrotische Zelle und sind mit mehreren Ausläufern (Eindringstellen: große Pfeile, \times Querschnitte) bereits auch ins Innere vorgestoßen. ($12370\times$)

ursprünglich benachbarten Leberepithelien in Kontakt stehen, werden sie allseits von proliferierten Histiocyten umschlossen. Diese grenzen mit — häufig lamellenartig geschichteten — Cytoplasmaabschnitten direkt an die gebuchtete Oberfläche der ausgestoßenen Epithelzelle. Oft können auch tief ins Innere des toten

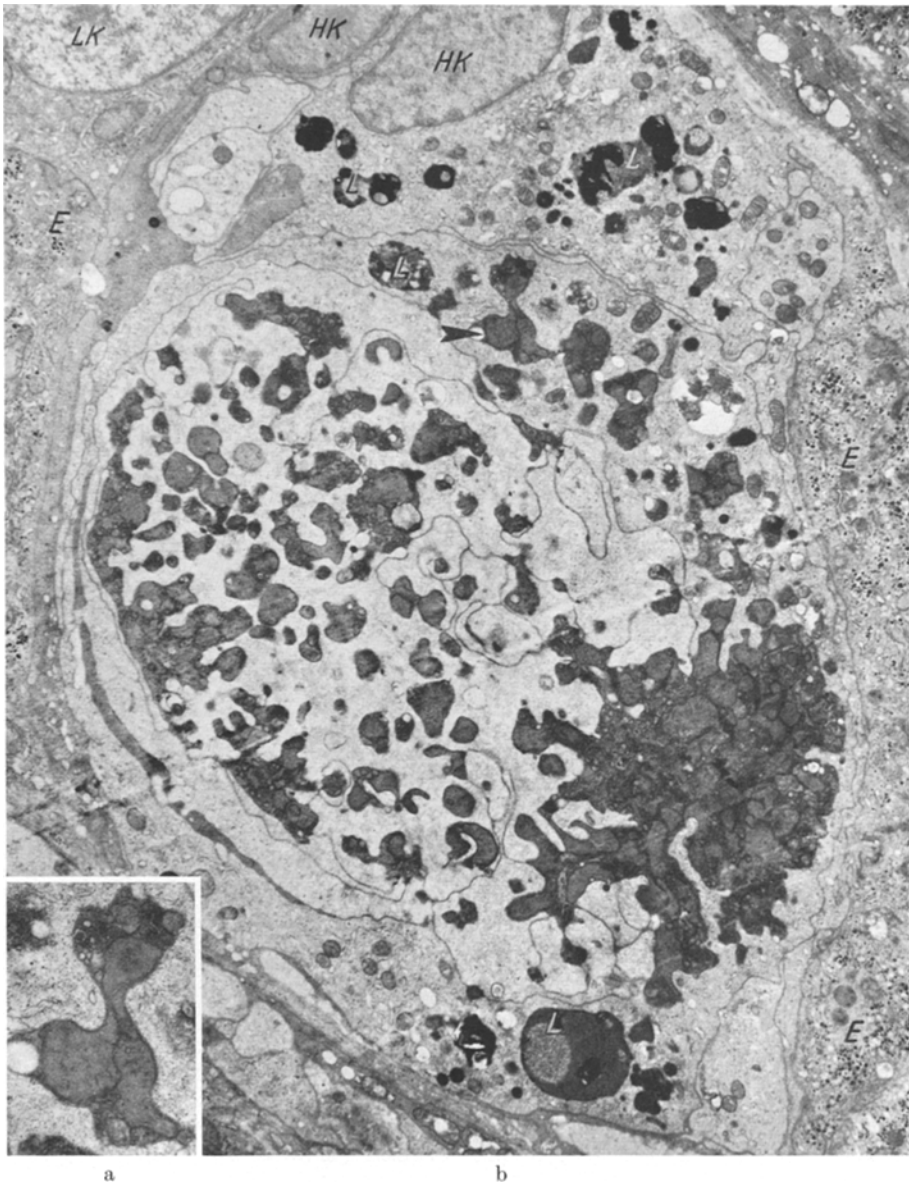


Abb. 4. In multiple Teile zerlegte Leberepithelzelle von einem System ineinander verzahnter Histiocyten umgeben. In einzelnen Paketen sind immer noch Mitochondrien erkennbar. (Ein Beispiel, mit Pfeil markiert, erscheint im Detail unten links). *HK* Histiocytenkern, *L* lysosomale Strukturen, *LK* Kern und *E* Cytoplasma intakter Leberepithelzellen. (5520 \times)

Zelleibes vorgestoßene Ausläufer der Histiocyten nachgewiesen werden (Abb. 3b). Endlich finden sich Bilder ineinander verzahnter Histiocyten, die zwischen und in sich multiple Teile einer degenerierten Epithelzelle aufweisen, wobei in den einzelnen Paketen meist noch erstaunlich gut erhaltene Organellen, vorwiegend Mitochondrien, zu finden sind (Abb. 4). In kernnahen Abschnitten der entsprechenden

Histiocyten treten in diesem Stadium vermehrt lysosomale Strukturen auf, teilweise schattenhafte Organellenreste, teilweise Ferritin enthaltend. Das histiocytäre Grundcytoplasma zeigt eine auffallend geringe Elektronendichte.

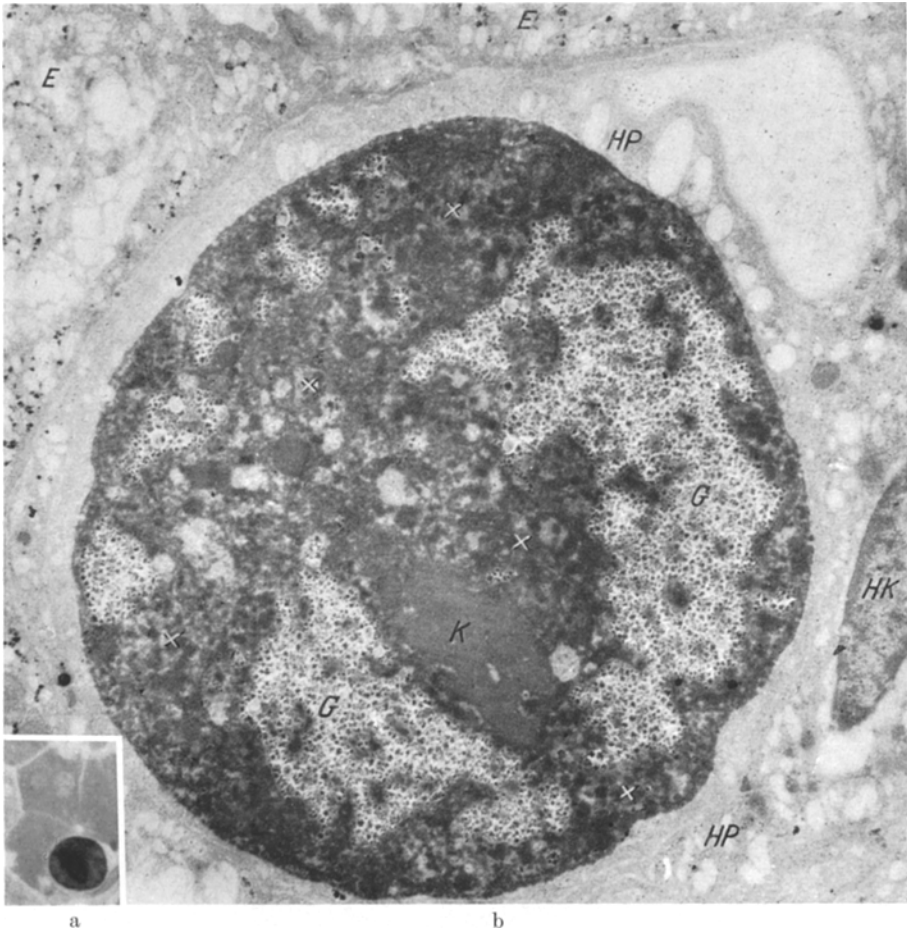


Abb. 5. a Acidophiler Körper ("Councilman-like" body), lichtoptisch rund, scharf begrenzt (720 \times). b Elektronenoptisch im „dunklen“ Kompartiment (\times) keine klassifizierbaren Organellenreste zu erkennen. Im „hellen“ Anteil typisch rosettenförmiges Glykogen. K pyknotischer Epithelzellkern, HK Kern und HP Cytoplasma umgebender Histiocyten, E Anschnitte von Leberepithelzellen. (9670 \times)

2b. *Einzelzellnekrosen mit weitgehend umgebauter Ultrastruktur.* Es sind dies die im Lichtmikroskop als acidophile, auch rote oder hyaline Körper ("Councilman-like" bodies) beschriebenen Formen: scharf begrenzte, meist runde, stark eosinophile Gebilde, oft von punkt- oder girlandenförmigen dunklen Strukturen durchsetzt. Selten lassen sich bereits lichtoptisch Reste eines pyknotischen Kerns nachweisen (Abb. 5a).

Diese Elemente sind meist deutlich von den Leberepithelplatten abgesetzt und von Histiocyten umgeben, liegen aber bisweilen noch unverrückt in der Achse eines Parenchymstranges. Elektronenoptisch erscheinen die acidophilen

Körper meist als aus zwei Hauptanteilen aufgebaut. Diese fallen bereits in der Übersicht durch ihre stark unterschiedliche Elektronendichte auf. Das wenig elektronendichte, also „helle“ Areal ist von feinsten, meist zu kleinen Gruppen geordneten Granula durchsetzt. Ihre dabei oft deutlich rosettenförmige Anordnung gestattet auch hier noch die Identifikation mit dem für Leberepithel typischen Glykogen. Im elektronendichten „dunklen“ Anteil, dem Äquivalent der lichtoptisch oft sichtbaren girlandenförmigen Einschlüsse, sind dagegen kaum mehr Organellenreste erkennbar. Es finden sich höchstens homogene, scheibenförmige Gebilde oder dichte Stapel dunkler Lamellen, ganz selten schattenhafte Mitochondrien. Bisweilen stößt man jedoch im elektronendichten Kompartiment auf einen völlig homogenisierten, pyknotischen Kern (Abb. 5b). Das dunkle Areal umfaßt demnach Kern, Ergastoplasma und Mitochondrien der nekrotischen Leberepithelzelle. Dieser dunkle Anteil nimmt, meist nur elektronenoptisch als feiner Saum erkennbar, häufig die ganze Oberfläche des acidophilen Körpers ein, der stets, sofern er nicht noch völlig in der Leberepithelachse liegt, von Histiozyten allseits umschlossen wird. Beim weiteren Abbau scheint es vorwiegend zu einer allmählichen Verkleinerung dieser Gebilde zu kommen, wobei eine Zerlegung in wenige größere Bruchstücke beobachtet werden kann. Dabei finden sich im Cytoplasma der umschließenden Histiozyten multiple, meist umfängliche lysosomale Strukturen.

Diskussion

Dank der licht- und elektronenoptisch an einzelnen Zellen korreliert durchgeführten Untersuchung läßt sich einwandfrei belegen, daß die degenerativen Einzelzellveränderungen im Leberparenchym: eosinophile Degeneration, Einzelzellnekrose und acidophile Körper, verschiedene Entwicklungsstadien des lichtoptisch als Coagulationsnekrose (ALTMANN, 1955) definierten Prozesses darstellen. Für morphologisch sicher faßbare Frühstadien (eosinophile Degeneration) stellt dabei die nur elektronenoptisch sichtbare, mit Volumenreduktion einhergehende, homogene Verdichtung des gesamten Grundcytoplasmas bei vorerst intakten Organellen die wichtigste Veränderung dar. Der gleichzeitig auftretende reduzierte Zellturgor dürfte Folge eines erheblichen Hydratationsverlustes sein, wie dies bereits KLION und SCHAFFNER (1966) aus ihren Beobachtungen an Spätstadien geschlossen haben. Der Prozeß unterscheidet sich damit grundsätzlich von den lichtoptisch ebenfalls hyalinen und mit verstärkter Eosinophilie einhergehenden, elektronenoptisch jedoch stets fokalen Veränderungen des Cytoplasmas, wie sie in Leberzellen experimentell am Tier oder beim Menschen bei Alkoholismus (BLAVA, 1964; BLAVA und MUKHLOVA, 1965) beobachtet werden können.

Rückschlüsse auf Art und Zusammenspiel der Nekrobioseauslösenden Faktoren lassen auch die gezeigten Frühveränderungen nicht zu.

Der früher diskutierte direkte Virusangriff, ferner Hypoxie oder Stase fallen außer Betracht (KLION und SCHAFFNER, 1966; KETTLER, 1949; McLEAN et al., 1965). KLION und SCHAFFNER (1966) vermuten Zusammenhänge mit den im Elektronenmikroskop bei Tier und Mensch normalerweise und unter pathologischen Verhältnissen oft gehäuft (THERON, 1965) zu beobachtenden dunklen Leberzellen, die lediglich durch eine Verdichtung des volumemäßig nicht reduzierten Grundcytoplasmas gekennzeichnet sind. Bedeutung und Pathophysiologie dieser dunklen Elemente wie auch ihre Abgrenzung gegenüber dem gleichlautenden

lichtmikroskopischen Begriff (KETTLER, 1949) sind hingegen noch völlig ungeklärt, wird doch dieser Zelltyp selbst in neueren Übersichtsarbeiten (ROUILLER und JÉZÉQUEL, 1963; BRUNI und PORTER, 1965) noch nicht erwähnt.

Ungewiß bleibt auch der primäre celluläre Angriffspunkt des schädigenden Agens. Immerhin erlaubt das vorerst unveränderte Ergastoplasma den Schluß, daß die unbekannte Noxe nicht initial an dieser Struktur und damit an der Proteinsynthese angreift, wie dies etwa für Frühstadien nach Applikation von CCl_4 anzunehmen ist (MAGEE, 1966). Da in Frühstadien die Veränderung des Kerns stets gegenüber derjenigen des Cytoplasmas weniger ausgeprägt ist, wie dies bereits POPPER und SCHAFFNER (1957) erwähnen, dürfte der primäre Angriffspunkt auch nicht hier, wie dies BIAVA und MUKHLOVA (1965) annehmen, zu suchen sein (MAGEE, 1966).

Wie KLION und SCHAFFNER (1966) konnten auch wir keine parallel zur Verdichtung des Grundcytoplasmas ablaufenden Kolliquationsvorgänge (COSSEL, 1966) beobachten. Auch fehlen in unserem Material Hinweise auf die von COSSEL erwähnte topographische Prädisposition der Verdichtungsprozesse in der Umgebung ergastoplasmareicher Zellabschnitte. Die von dem genannten Autor für die Coagulationsnekrose von Leberepithelien entwickelte Zwei-Phasentheorie einer primären Verflüssigung des Grundcytoplasmas mit sekundärer „Eiweißgerinnung“ dürfte demnach zum mindesten keine allgemeine Gültigkeit besitzen. Wieweit heute der lichtmikroskopische, deskriptiv treffende Begriff der Coagulation oder Eiweißgerinnung überhaupt direkt auf ultrastrukturelle Veränderungen übertragen werden kann, bedarf wohl noch eingehender Prüfung.

Hingegen zwingt das bei elektronenoptisch verdichtetem, lichtmikroskopisch verstärkt eosinophilem Grundcytoplasma vorerst unveränderte endoplasmatische Reticulum zur Erweiterung des bisherigen Begriffes vom Verlust der cytoplasmatischen Basophilie (POPPER und SCHAFFNER, 1957; ROUILLER, 1964), die bisher, vor allem auf Grund ultrastruktureller Befunde bei toxischen Leberschädigungen, mit einer Ablösung und zahlenmäßigen Reduktion membranständiger Ribosomen gleichgesetzt wurde (MCLEAN et al., 1965). Bei unseren Ergebnissen darf angenommen werden, daß die Hydratationsänderung des Grundcytoplasmas mit einer erheblichen pH-Verschiebung in diesem Zellkompartiment verbunden ist. Diese wiederum dürfte die Zahl der prinzipiell zur Reaktion mit basischen Farbstoffen fähigen sauren Valenzen der Ribonucleoproteinkomplexe soweit verringern, daß es zu einer verstärkten Eosinophilie des Cytoplasmas bei strukturell unverändertem endoplasmatischen Reticulum kommt, ein Prozeß, der bereits von BIAVA und MUKHLOVA (1965) an Hand ihrer Beobachtungen an acidophilen Körpern vermutet wurde.

Die Verdichtung des Grundcytoplasmas dürfte nun andererseits zu einer erheblichen Reduktion des intracellulären Stofftransportes führen, was schließlich in morphologisch faßbaren Veränderungen der Organellen zum Ausdruck kommt. Die dabei auftretenden unregelmäßigen Verdichtungen in der Matrix geblähter Mitochondrien stellen wohl kaum mehr reversible Schädigungen dar (TRUMP et al., 1965a). Die später zu beobachtende Verdichtung der ergastoplasmatischen Innenräume weist auf den Zusammenbruch der den entsprechenden Membranen zugeschriebenen osmotischen Reglerfunktion (ROUILLER, 1964; MCLEAN et al., 1965) hin.

Während dieser Prozesse setzt die Ablösung aus dem Epithelverband ein. Erfolgt die Ausschleusung früh, so gerät die degenerierte Zelle mit elektronenoptisch noch weitgehend erhaltener Organellenstruktur in Kontakt mit Histiozyten und wird offenbar rasch durch deren Zellausläufer zerlegt und verdaut. Ist die nekrotische Umwandlung dagegen schon weit fortgeschritten, so tritt das nekrotische Zellelement als kompaktes, kugelförmiges Gebilde (acidophiler Körper) aus dem Epithelverband aus und wird als Ganzes von Histiozyten umschlossen. Das dabei ultrastrukturell noch meist gut erhaltene, typisch rosettenförmige Glykogen erlaubt die eindeutige Herleitung dieser Körper von Leber-epithelzellen (BIAVA, 1963). Der weitere Abbau erfolgt hier vorwiegend durch Schrumpfung bei histiocytärer Zerlegung in wenige größere Bruchstücke.

Das Ausmaß der degenerativen Umwandlung von Einzelzellen scheint vom Funktionszustand der direkt benachbarten Leberepithelien mitbeeinflusst zu werden, weisen doch die direkt an eosinophil degenerierte Elemente angrenzenden Zellen oft ein ungewöhnlich wenig elektronendichtes Cytoplasma auf (Abb. 1 b). Ferner kommen die geschilderten Einzelzellveränderungen nur dann zur Ausbildung, wenn die umgebenden Zellen vital sind. Ergreift der nekrobiotische Prozeß dagegen den ganzen Gewebsverband gleichzeitig, wie etwa bei der kürzlich dargestellten „Necrosis in vitro“ (TRUMP et al., 1965 b), so können diese Veränderungen nicht beobachtet werden.

Literatur

- ALTMANN, H. W.: Allgemeine morphologische Pathologie des Cytoplasmas. Die Pathobiosen. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/1, S. 419—613 (F. BÜCHNER, E. LETTERER, F. ROULET Hrsg.) Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- AXENFELD, H., u. H. BRASS: Klinische und biopsische Untersuchungen über den sogenannten Icterus catarrhalis. Frankfurt. Z. Path. **57**, 147—236 (1943).
- BIANCHI, L.: Punktatmorphologie und Differentialdiagnose der Hepatitis. Bern: Hans Huber 1967.
- BIAVA, C.: Identification and structural forms of human particulate glycogen. Lab. Invest. **12**, 1179—1197 (1963).
- , Mallory alcoholic hyalin: a heretofore unique lesion of hepatocellular ergastoplasm. Lab. Invest. **13**, 301—320 (1964).
- , and M. MUKHLOVA-MONTIEL: Electron microscopic observations on councilman-like acidophilic bodies and other forms of acidophilic changes in human liver cells. Amer. J. Path. **46**, 775—802 (1965).
- BRUNI, C., and K. R. PORTER: The fine structure of the parenchymal cell of the normal rat liver. I. General observations. Amer. J. Path. **46**, 691—756 (1965).
- COSSEL, L.: Elektronenmikroskopische Befunde beim intravitalen Untergang von Leberzellen. Beitr. path. Anat. **133**, 156—185 (1966).
- JONES, W. A., and R. B. COHEN: The effect of a murine hepatitis virus on the liver. Amer. J. Path. **41**, 329—348 (1962).
- KETTLER, L. H.: Untersuchungen über die Genese von Lebernekrosen auf Grund experimenteller Kreislaufstörungen. Virchows Arch. path. Anat. **316**, 525—574 (1949).
- KLION, F. M., and F. SCHAFFNER: The ultrastructure of acidophilic “councilman-like” bodies in the liver. Amer. J. Path. **48**, 755—768 (1966).
- MAGEE, P. N.: Toxic liver necrosis. Lab. Invest. **15**, 111—131 (1966).
- MCLEAN, A. E. M., E. MCLEAN, and J. D. JUDAH: Cellular necrosis in the liver induced and modified by drugs. In: Internat. review of experimental pathology, vol. 4, p. 126—158 (G. W. RICHTER and M. A. EPSTEIN, eds.). New York and London: Academic Press 1965.
- MARTIN, J. H., J. A. LYNN, and W. M. NICKY: A rapid polychrome stain for epoxy-embedded tissue. Amer. J. clin. Path. **46**, 250—251 (1966).

- POPPER, H., and F. SCHAFFNER: Liver: Structure and Function. New York-Toronto-London: The Blakiston Div., McGraw-Hill Book Co. 1957.
- ROUILLER, CH.: Experimental toxic injury of the liver. In: *The Liver*, vol. 2, p. 335—476 (Ch. ROUILLER, ed.). New York and London: Academic Press 1964.
- , and A.M. JÉZÉQUEL: Electron microscopy of the liver. In: *The Liver*, vol. 1, p. 195—264 (Ch. ROUILLER, ed.). New York and London: Academic Press 1963.
- RUEBNER, B., and K. MIYAI: The Kupffer cell reaction in murine and human viral hepatitis, with particular reference to the origin of acidophilic bodies. *Amer. J. Path.* **40**, 425—435 (1962).
- THERON, J.J.: Acute liver injury in ducklings as a result of Aflatoxin poisoning. *Lab. Invest.* **14**, 1586—1603 (1965).
- TRUMP, B.F., P.J. GOLDBLATT, and R.E. STOWELL: Studies on necrosis of mouse liver in vitro. Ultrastructural alterations in the mitochondria of hepatic parenchymal cells. *Lab. Invest.* **14**, 343—371 (1965a).
- — — — — Studies of necrosis in vitro of mouse hepatic parenchymal cells. Ultrastructural alterations in endoplasmic reticulum, Golgi apparatus, plasma membrane and lipid droplets. *Lab. Invest.* **14**, 2000—2028 (1965b).

Dr. J. MOPPERT
Ludwig-Aschoff-Haus
Pathologisches Institut der Universität
7800 Freiburg i. Br., Albertstr. 19