

Ultrastrukturelle und histochemische Untersuchungen an der Rattenniere bei chronischer Mangelernährung*

J. TORHORST, O. v. DEIMLING, L. RICHTER und H. P. ROHR

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

Eingegangen am 5. Mai 1967

Ultrastructural and Histochemical Studies of the Rat Kidney in Chronic Starvation

Summary. Light- and electron microscopic and histochemical changes of the proximal renal tubule of female rats have been studied after four weeks of restriction of total dietary intake. The most prominent findings are:

1. Hemosiderosis of the proximal convoluted tubule cells;
2. in the same part of the nephron, an augmentation of autophagic vacuoles (cytolysosomes) whose contents seem to transform into myelin figures;
3. an increase in the acid phosphatase activity of the cortex and the outer medullary stripes (72% and 60% respectively, in female rats in oestrus), and
4. a highly significant decrease in the alkaline phosphatase activity of the outer medullary stripes (72% in female rats in oestrus) without morphologic alteration of the brush border. The findings are discussed and interpreted as an adaptation of the tubular cells to an altered stress associated with chronic starvation.

Zusammenfassung. An weiblichen Ratten werden die lichtmikroskopischen, ultrastrukturellen und histochemischen Veränderungen des proximalen Tubulus nach vierwöchiger Mangelernährung untersucht. Die wesentlichen Befunde sind: 1. eine Hämosiderose des gewundenen Hauptstücks, 2. im gleichen Nephronabschnitt eine Vermehrung von Autophagievacuolen bzw. Cytolysosomen, deren Inhalt sich in Myelinfiguren umzuwandeln scheint, 3. eine Aktivitätssteigerung der sauren Phosphatase in Rinde und Außenstreifen um 72% bzw. 60% (bezogen auf Weibchen im Oestrus) und 4. ein hochsignifikanter Aktivitätsabfall der alkalischen Phosphatase im Außenstreifen um 72% (bezogen auf Weibchen im Oestrus) ohne morphologische Veränderungen am Bürstensaum. Die Befunde werden als Anpassung der Tubuluszelle an eine veränderte Belastung bei chronischer Mangelernährung gedeutet.

Bei chronischer Phenacetinbelastung ist die Nahrungsaufnahme von weiblichen Ratten etwa auf die Hälfte eingeschränkt. Es ist deshalb diskutiert worden, ob die beschriebenen ultrastrukturellen Veränderungen am proximalen Tubulus teilweise durch Mangelernährung bedingt sein könnten (TORHORST u. Mitarb., 1967).

Bei chronischer Unterernährung ist *lichtmikroskopisch* eine Hämosiderose sowohl von Leber und Milz als auch der Nierenhauptstückepithelien bekannt (LUBARSCH, 1921; VOLLMAND u. PRIBILLA, 1957; GIESE, 1962). *Elektronenoptische* Untersuchungen der proximalen Tubuluszelle bei chronischer Mangelernährung sind uns jedoch bisher nicht bekannt geworden. Bei akutem Nahrungsentzug dagegen werden neben einer reversiblen Schwellung der Mitochondrien polymorphe

* Ausgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Cytoplasmaeinschlüsse beschrieben, die unter anderem untergehende Mitochondrien enthalten (ROUILLER u. GANSLER, 1955; GANSLER u. ROUILLER, 1956).

In der folgenden Arbeit soll der proximale Tubulus der Rattenniere bei chronischer Mangelernährung lichtmikroskopisch, ultrastrukturell sowie histochemisch untersucht werden.

Versuchsanordnung und Methodik

Von insgesamt sieben weiblichen, 3—5 Monate alten, 270—390 g schweren Ratten (Stamm 46 BR Wistar II) erhalten fünf täglich je 6 g Altromin-R über 4 Wochen, zwei Ratten 20 Wochen lang je 10 g Altromin-R täglich und Wasser ad libitum. Weibliche, gleichaltrige Kontrollratten fressen zwischen 15 und 30 g Futter täglich.

Nach Tötung der Tiere werden Nieren, Leber und Milz lichtmikroskopisch und elektronenmikroskopisch untersucht. (Fixierung in 2% OsO₄, Einbettung in Epon 812, Nachkontrastierung mit Bleihydroxyd oder Bleicitrat.) Die histochemische Enzymdarstellung erfolgt an Kryostatschnitten.

Bestimmung der spezifischen Enzymaktivitäten: Aus gefriergetrockneten Nierenschnitten von 800 μ Dicke werden mikromanipulatorisch eine nur Rindenmaterial enthaltende und eine aus dem Außenstreifen stammende Zone abgetrennt (Präparationsweise: v. DEIMLING u. Mitarb., 1967). In beiden Abschnitten werden getrennt die alkalische Phosphatase (Methode: BESSEY u. Mitarb., 1946) und die saure Phosphatase (Methode: ANDERSCH u. SZCZYPINSKY, 1947) bestimmt und auf den Proteingehalt bezogen (Proteinbestimmung nach LOWRY u. Mitarb., 1951). Die Angabe der spezifischen Enzymaktivität erfolgt in MKH (Mol Umsatz pro kg Protein und Stunde bei 37° C).

Ergebnisse

Die nach 4 Wochen untersuchten Tiere (6 g Futter/Tag) verlieren kontinuierlich zwischen 23 und 33% des Ausgangsgewichtes. Dabei nehmen die Tiere mit höherem Ausgangsgewicht stärker ab. Die beiden nach 20 Wochen untersuchten Tiere (10 g Futter/Tag) haben bereits nach 2 Wochen das tiefste Gewicht erreicht (Gewichtsabnahme 7 bzw. 12% des Ausgangsgewichtes), danach folgt ein Gewichtsanstieg bis fast zu den Ausgangswerten. Die Vaginalabstriche ergeben bei diesen beiden Tieren einen etwas verlangsamten Cyclus, die übrigen zeigen keine cyclischen Veränderungen der Vaginalschleimhaut mehr. Da sich die lichtmikroskopischen, ultrastrukturellen und histochemischen Veränderungen der proximalen Tubuluszelle bei den nach 4 Wochen und nach 20 Wochen untersuchten Tieren nicht wesentlich voneinander unterscheiden, werden die Ergebnisse zusammengefaßt.

Lichtmikroskopie

Niere. Die *Glomerula* erscheinen unverändert. In der Rinde zeigen sich bei einigen Tieren kleine, herdförmige, lymphocytäre Infiltrate. Das Interstitium ist nicht verbreitert. Die Gefäße sind unverändert.

Die Tubuluslichtungen des *gewundenen Hauptstücks* sind nur teilweise erhalten. In den Lumina finden sich vereinzelt Pigmentschollen und Zelltrümmer. In den Tubuluszellen kann mit der Turnbull-Reaktion reichlich körniges und scholliges eisenpositives Pigment nachgewiesen werden, ebenso in den Zellen des Rindeninterstitiums. Mit der Berliner-Blau-Reaktion stellt sich nur ein sehr geringer Teil dieses Eisens dar. Daneben sieht man im gewundenen Teil des *Hauptstücks* ein überwiegend scholliges, eisennegatives Pigment von goldgelber Eigenfarbe. Das Pigment ist PAS-negativ, färbt sich nach MASSON-HAMPERL dunkelbraun bis schwarz und ist in der Ziehl-Neelsen-Färbung dunkelrot. Die *pars recta* des *Hauptstücks* erscheint bis auf geringe herdförmige Einlagerung von feingranulärem, eisennegativem Pigment mit brauner Eigenfarbe unverändert.

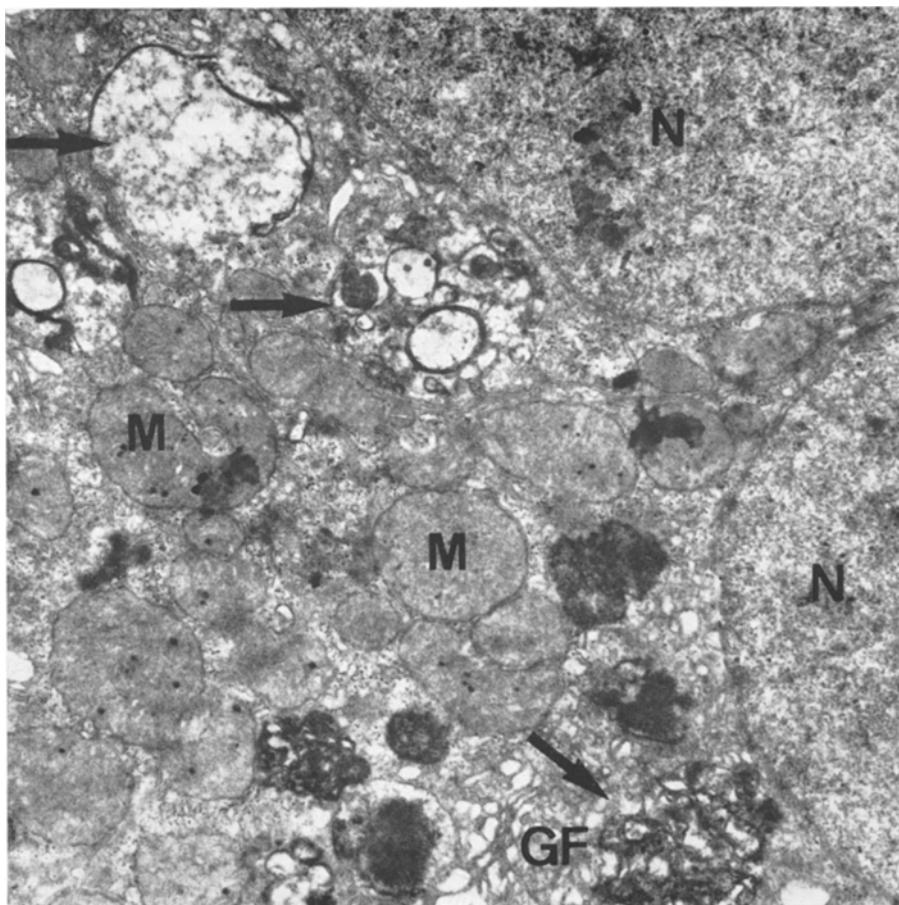


Abb. 1. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle der Rattenniere nach vierwöchiger Mangelernährung. Autophagievakuolen bzw. Cytolysosomen mit Membranfragmenten. N Zellkern; M Mitochondrien; GF Golgi-Feld; → Cytolysosomen. 16000:1

Leber. Der Läppchenaufbau ist regelrecht. In den Leberparenchymzellen und vor allem in den v. Kupfferschen Sternzellen findet sich besonders centroacinar reichlich eisenpositives Pigment. Die Periportalfelder sind unauffällig.

Milz. Der histologische Aufbau erscheint unverändert. Bei Turnbullfärbung findet sich in der roten Pulpa massenhaft eisenpositives Pigment. Bei Berliner-Blau-Färbung ist wesentlich weniger Eisen dargestellt, dafür aber „eisennegatives“ Pigment mit gelber Eigenfarbe. In geringerem Maße haben auch die Reticulumzellen der Follikel eisenpositives Pigment gespeichert.

Elektronenmikroskopie

Niere. Der auffallendste ultrastrukturelle Befund am *gewundenen Teil des Hauptstücks* ist das Auftreten von sehr vielen Autophagievakuolen bzw. deren Umwandlungsformen, den Cytolysosomen, die untergehende Mitochondrien sowie andere Bestandteile der Zelle enthalten (Abb. 1). Der Inhalt der Cytolysosomen scheint sich manchmal in Myelinfiguren umzuwandeln (Abb. 2). Ebenfalls in den Zellen des gewundenen Hauptstücks lassen sich homogen granulierte Pigment-

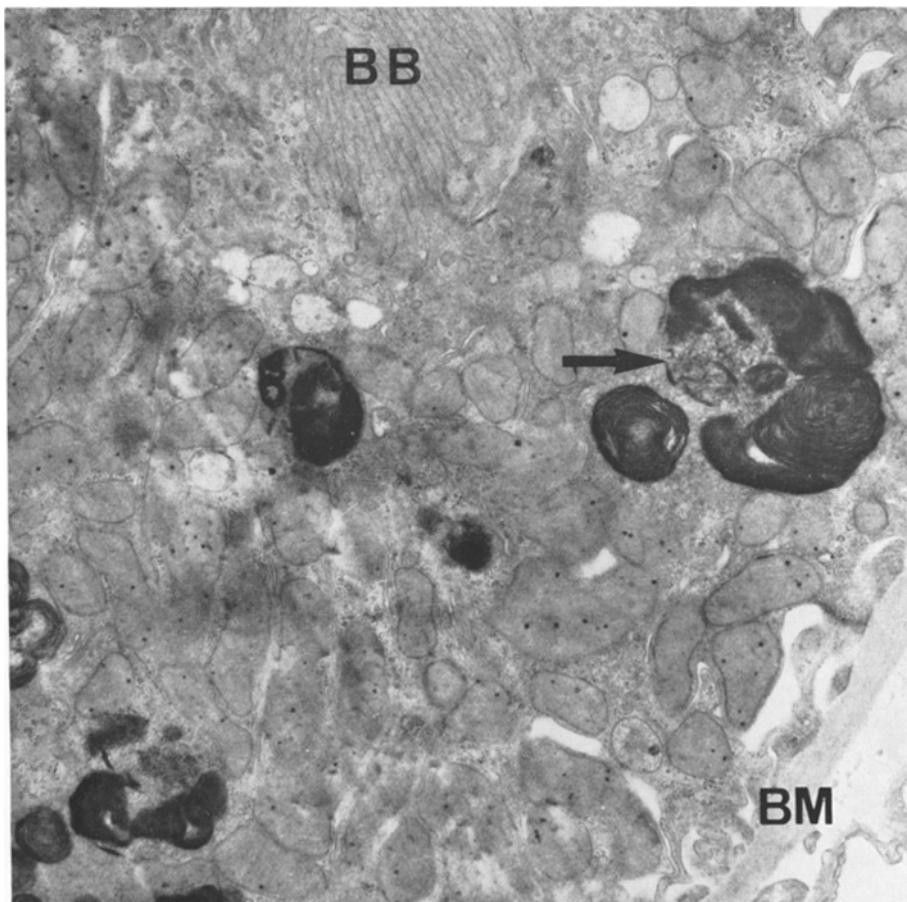


Abb. 2. Proximale Tubulusepithelzelle der Rattenniere nach vierwöchiger Mangelernährung. Autophagievacuolen bzw. Cytolysosomen mit Myelinfiguren. *BM* Basalmembran; *BB* Bürstensaum; → Cytolysosomen. 14000:1

körper nachweisen, die von einer Membran umgeben sind (Abb. 3). In einem Teil der Pigmentkörper sind Membranen enthalten, die eine Tendenz zur Bildung von Myelinfiguren zeigen. Myelinfiguren kommen seltener auch frei im Cytoplasma vor, außerdem finden sie sich im Tubuluslumen (Abb. 4). Die Mitochondrien zeigen besonders in enger Nachbarschaft der Pigmentansammlungen eine ungewöhnlich wechselnde Größe. Ihre Innenstruktur ist regelrecht aufgebaut. Das glatte endoplasmatische Reticulum zeigt eine herdförmige Proliferation. Die Golgi-Felder erscheinen vergrößert. Das basale Labyrinth ist in den Zellen mit großen Autophagievacuolen dilatiert. Die im Rindenbereich untersuchten Anteile des *gestreckten Hauptstiicks* zeigen im wesentlichen ähnliche Veränderungen wie die angrenzenden gewundenen Hauptstücke: Auch hier wird das Bild beherrscht von Autophagievacuolen bzw. Cytolysosomen, die fast Kerngröße erreichen. Diese Körper schließen jedoch nur verhältnismäßig wenig Membranreste in sich ein. Myelinfiguren sind nur spärlich vorhanden und stehen meist in enger

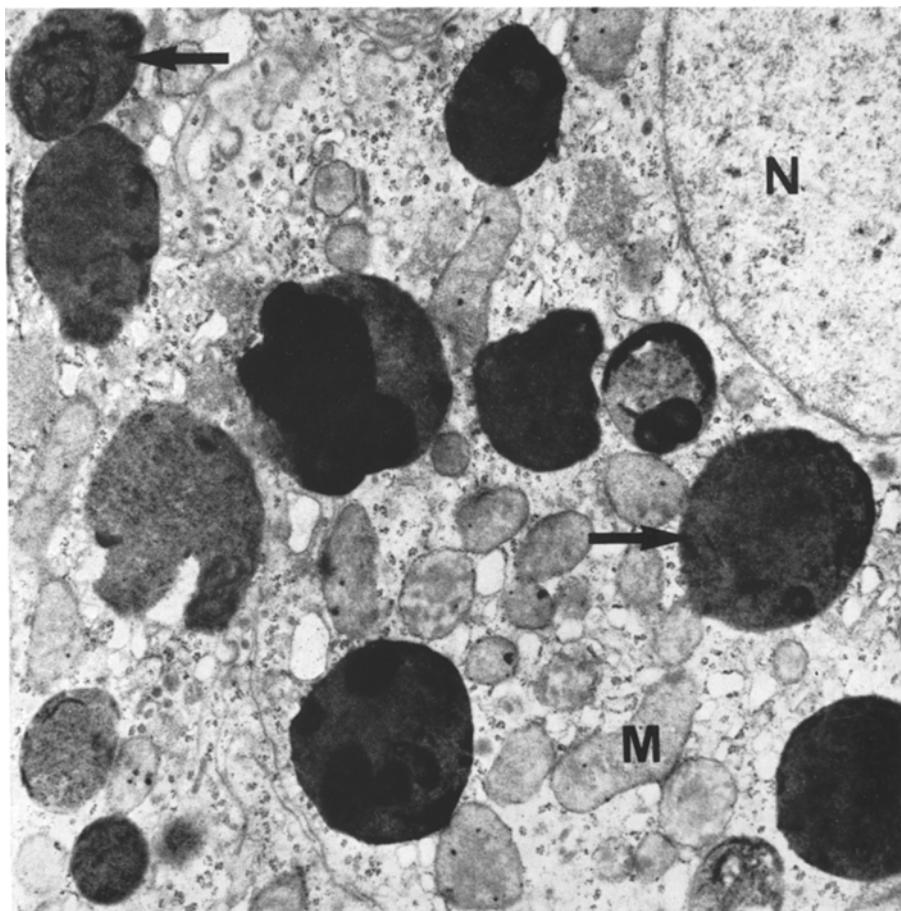


Abb. 3. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle der Rattenniere nach vierwöchiger Mangelernährung. Homogen granulierte Pigmentkörper, die teilweise Membranen enthalten. N Kern; M Mitochondrien; → Pigmentkörper mit Membranen. 16000:1

Beziehung zu lysosomalen Zellstrukturen. Die übrigen Zellorganellen und im besonderen die Bürstensäume lassen keine pathologischen Veränderungen erkennen. Das basale Labyrinth ist wechselnd weit gestellt.

Enzymaktivitäten

Da die Enzymaktivitäten nicht hungernder weiblicher Tiere vom endokrinen Status stark abhängig sein können, werden die Ergebnisse der Hungerexperimente gleichzeitig drei verschiedenen Kollektiven: Weibchen im Oestrus, Weibchen im Dioestrus und kastrierten Weibchen, gegenübergestellt.

Die Aktivitäten der *sauren Phosphatase* sind gegenüber allen drei Kollektiven in Rinde und Außenstreifen deutlich erhöht. Das zeigt bereits der unmittelbare visuelle Vergleich zwischen *histochemischen* Präparaten (Abb. 5). Das Ergebnis der visuellen Abschätzung steht in guter Übereinstimmung mit den *quantitativen* Messungen (Tabelle). In der Rinde beträgt der mittlere Aktivitätszuwachs der

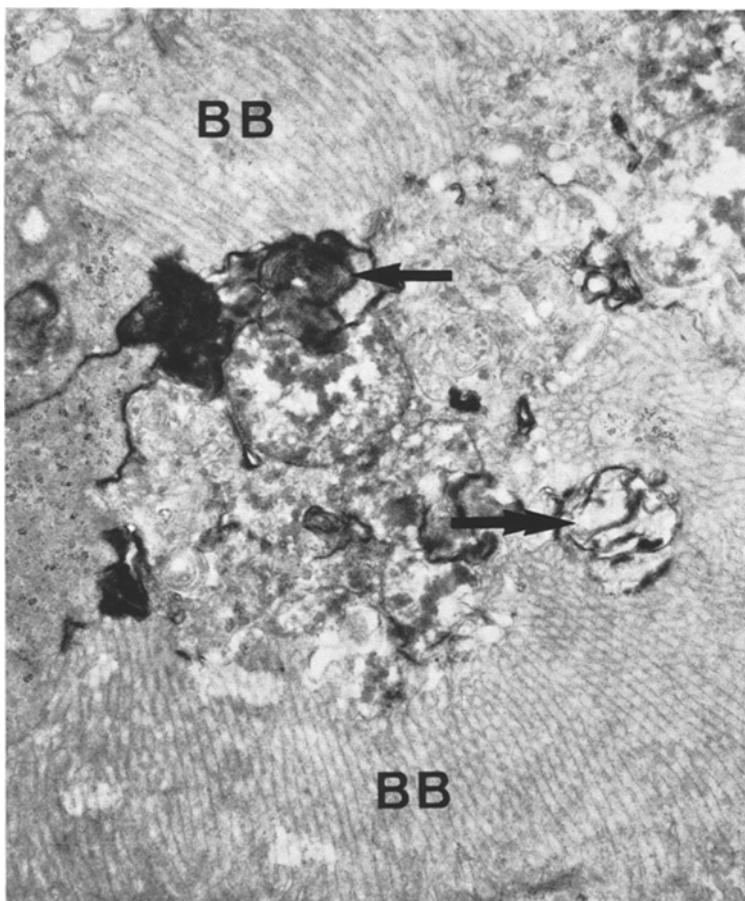


Abb. 4. Lumen einer proximalen Tubulusepithelzelle der Rattenniere nach vierwöchiger Mangelernährung. Autophagievacuolen bzw. Cytolysosomen und Myelinfiguren im Tubuluslumen. BB Bürstensaum; → Myelinfiguren; →→ Cytolysosomen. 15000:1

Hungertiere gegenüber Weibchen im Dioestrus 1,7 MKH, gegenüber den beiden anderen Gruppen ist er noch größer. Die Unterschiede sind hochsignifikant. Etwas geringer, aber ebenfalls hochsignifikant ist der Aktivitätszuwachs im Außenstreifen.

Bei der *alkalischen Phosphatase* ist in der Rinde im *histochemischen* Präparat kein sicherer Effekt wahrzunehmen. Im Außenstreifen führt chronischer Hunger hingegen zu einem massiven Aktivitätsverlust, der sich im Einzelpräparat durch einen sprunghaften Abfall der Enzymreaktion an der Rinden/Mark-Grenze anzeigt (Abb. 6). Auch bei der alkalischen Phosphatase stehen die *quantitativen* Untersuchungen in guter Übereinstimmung mit den visuell geschätzten Ergebnissen (Tabelle). Die spezifische Aktivität im Außenstreifen ist bei chronischem Hunger auf 8,89 MKH abgesunken, das sind 72% der Aktivitäten von kastrierten Tieren und nur 28% der Aktivität von Weibchen im Oestrus. In der Rinde beträgt der entsprechende Wert 14,2 MKH. Gegenüber kastrierten Weibchen bedeutet das eine Aktivitätszunahme um 2,3 MKH (19%).

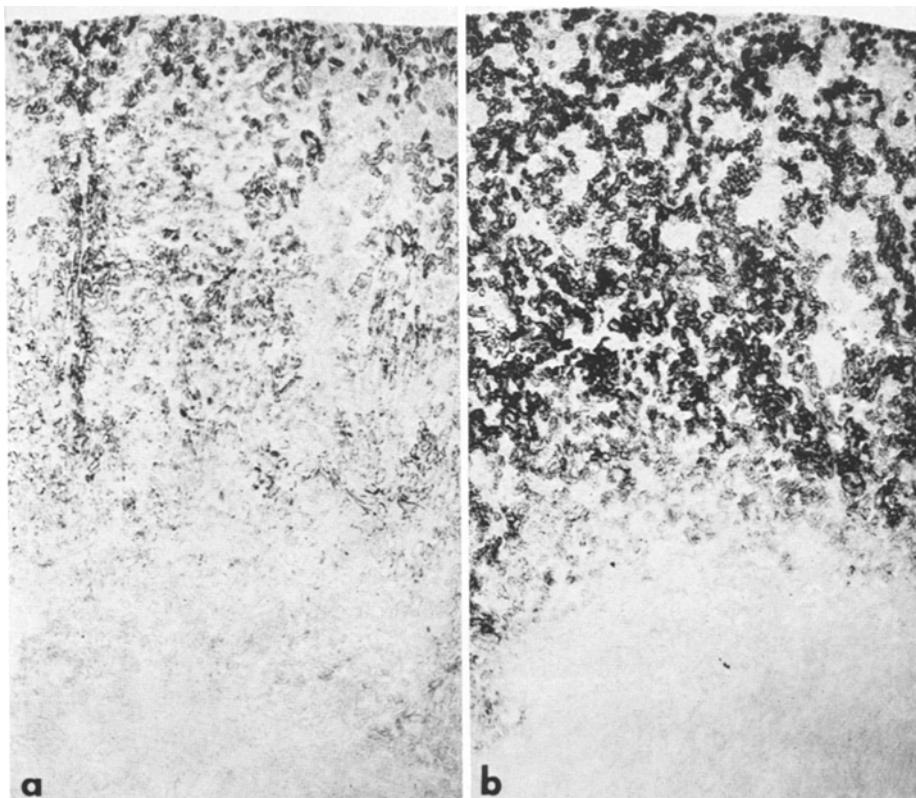


Abb. 5a u. b. Parallelendarstellung der sauren Phosphatase. a Normales Weibchen im Oestrus. b Weibchen nach vierwöchiger Mangelernährung. Sowohl in der Rinde wie im Außenstreifen hat eine deutliche Zunahme der Enzymreaktion stattgefunden

Tabelle. Die spezifischen Phosphataseaktivitäten (MKH) in Rinde (R) und Markaußenstreifen (A) der Rattenniere bei chronischer Unterernährung. Zum Vergleich die entsprechenden Werte bei früher untersuchten Kollektiven: normale Weibchen im Oestrus und Dioestrus (v. DEIMLING, WESSELS, OTTERMANN u. NOLTENIUS, 1967; v. DEIMLING u. BAUSCH, 1967) sowie kastrierten Weibchen (v. DEIMLING, RIEDEL, KLINGE u. BRÄMSWIG, 1967). s = Standardabweichung, n = Anzahl der untersuchten Tiere

	a. P'ase			s. P'ase		
	n	R	A	n	R	A
Hunger	7	14.20 s = 2,31	8.89 s = 3,03	7	5.00 s = 0,4	3.67 s = 0.6
Weibchen, Oestrus	30	15.98 s = 1,94	31.97 s = 3,38	20	2.91 s = 0,48	2.30 s = 0,28
Weibchen, Dioestrus	30	13.45 s = 2,02	21.99 s = 2,73	31	3.30 s = 0,57	2.50 s = 0,54
Kastrierte Weibchen	14	11.90 s = 1,80	12.30 s = 2,20	14	2.81 s = 0,28	2.69 s = 0,22

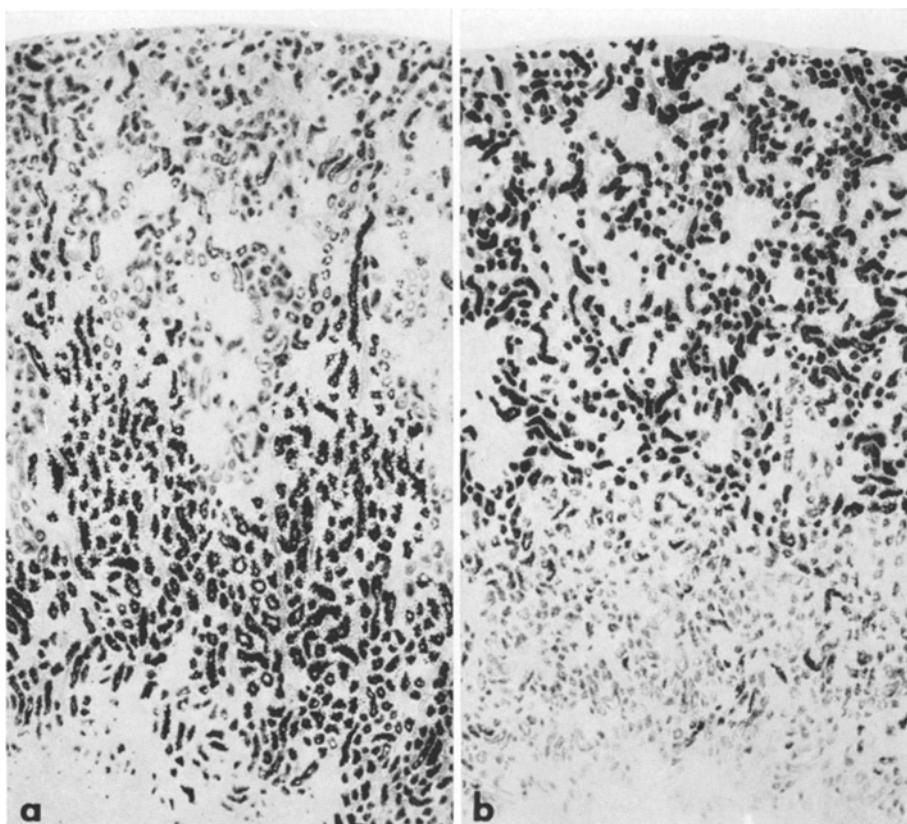


Abb. 6a u. b. Parallelendarstellung der alkalischen Phosphatase. a Normales Weibchen im Oestrus. Beachte die typische kräftige Enzymreaktion im Außenstreifen gegenüber der schwächeren in der Rinde. b Weibchen nach vierwöchiger Mangelernährung. Die Enzymreaktion in der Rinde hat sich nicht merklich geändert, im Außenstreifen wird eine massive Verminderung beobachtet

Diskussion

Bei langdauernder Unterernährung können am Nierenhauptstück der weiblichen Ratte die folgenden morphologischen und histochemischen Veränderungen gefunden werden:

1. Lichtmikroskopisch eisenpositives und eisennegatives Pigment fast ausschließlich im gewundenen Teil des Hauptstücks.
2. Ultrastrukturell reichlich Autophagievacuolen und Cytolysosomen, elektronendichte, homogen granulierte Pigmentkörper und Myelinfiguren im Cytoplasma der Tubuluszellen des gewundenen Hauptstücks.
3. Histochemisch eine Aktivitätssteigerung der sauren Phosphatase in Rinde und Außenstreifen und eine deutliche Aktivitätsverminderung der alkalischen Phosphatase im Außenstreifen.

Die Autophagievacuole, bzw. das sich durch Aufnahme von hydrolytischen Enzymen aus ihr entwickelnde Cytolysosom (HRUBAN u. Mitarb., 1963; ROHR, 1966) sind wesentliche Elemente cellulärer Anpassung an unterschiedliche Grade

funktioneller Belastung, indem sie der Beseitigung überflüssiger oder geschädigter intracellulärer Strukturen dienen. Autophagievacuolen und Cytolysosomen sind demnach normalerweise in denjenigen Zellen anzutreffen, die einer wechselnden funktionellen Beanspruchung ausgesetzt sind. Das vermehrte Auftreten von lysosomalen Körpern ist zweifellos Ausdruck einer verstärkten Einschmelzung von intracellulärem Material. Dabei ist die Grenze zwischen physiologischer und pathologischer Vermehrung von Cytolysosomen fließend. Eine Vermehrung von Cytolysosomen ist bei verschiedenen Tubulusschädigungen beschrieben worden, z. B. nach akutem Hunger (GANSLER u. ROUILLER, 1956).

Cytolysosomen sind Träger von hydrolytischen Enzymen, dabei gilt die saure Phosphatase als Leitenzym (MAUNSBACH, 1966). Die Vermehrung der Aktivität der sauren Phosphatase spricht zusammen mit unseren morphologischen Befunden dafür, daß auch bei chronischer Mangelernährung die lysosomale Aktivität im proximalen Tubulus gesteigert ist. Beim Abbau der in Cytolysosomen eingeschlossenen Zellbestandteile entstehen Myelinfiguren, die sich unter anderem aus Phospholipiden von „verdauten“ Mitochondrien aufbauen können.

Aufgrund der morphologischen und histochemischen Resultate haben wir also in hungernden Ratten mit einer massiven Änderung der funktionellen Belastung der Hauptstückepithelien zu rechnen, die zweifellos in verschiedene Teilkomponenten zu zergliedern ist: Eine erste Komponente veränderter Tubuluszellbelastung bei chronischer Mangelernährung stellt die massive *Hämosiderose* dar, die indirekt aus der verringerten erythropoetischen Aktivität des Knochenmarks folgt.

Als weitere Ursache für die vermehrte Belastung des proximalen Tubulus muß die *Hungeracidose* angesehen werden. Bei normovolämischer, metabolischer Acidose findet man im akuten Versuch bei Katzen und Hunden eine Abnahme der Nierendurchblutung um 20—50% des Ausgangswertes. Außerdem nimmt das Erythrocytenvolumen und damit der periphere Gefäßwiderstand bei metabolischer Acidose zu. Beide Faktoren führen zu einer Sauerstoffmangelversorgung der Niere (KITTLE u. Mitarb., 1965; ZIMMERMANN, 1965). Ferner führt der Hunger zu einer Abnahme des *Kaliumgehaltes* der Niere (REIMOLD, 1964). Bei Kaliummangelernährung werden am proximalen Tubulus Autophagievacuolen bzw. Cytolysosomen gefunden (HEUBAN u. Mitarb., 1963).

So leicht die Interpretation der Aktivitätsänderung der sauren Phosphatase fällt, so schwierig gestaltet sich ein entsprechender Versuch bei der *alkalischen Phosphatase*. Das Verhalten dieses Enzyms bei Hungertieren ist in Rinde und Außenstreifen unterschiedlich. Die Enzymaktivität wird von mehreren Faktoren bestimmt, von denen als einziger bisher das Oestradiol genauer bekannt ist. Bei Ratten wird die Aktivität der alkalischen Nierenphosphatase durch Oestradiol reguliert. Bei hungernden Weibchen muß man mit einer starken Verringerung des endogenen Oestradiols rechnen, denn es fehlen die cyclischen Veränderungen der Vaginalschleimhaut, die ein sehr empfindlicher Indikator für die Oestradiolwirkung sind. Infolgedessen sollten sich beim Hungertier Verhältnisse einstellen wie sie beim kastrierten Weibchen bekannt sind (Aktivität in der Rinde 11,9 MKH, im Außenstreifen 12,3 MKH). Es findet sich aber bei den Hungertieren eine mittlere Rindenaktivität von 14,2 MKH und ein entsprechender Außenstreifenwert von 8,89 MKH. Im *Außenstreifen* erfolgt also im Hunger eine hochsignifi-

kante Aktivitätsabnahme, die wesentlich über diejenige hinausgeht, die durch das Ausbleiben der Oestrogenproduktion bedingt ist. In der *Rinde* hingegen ist die spezifische Aktivität (Enzymaktivität bezogen auf Gesamtprotein) zweifellos höher als bei den kastrierten Tieren. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dieser Wert durch einen erniedrigten Proteingehalt der Zellen zustandekommt. Andererseits sehen wir es auch als durchaus möglich an, daß die Zellen des gewundenen Hauptstücks tatsächlich eine höhere Enzymaktivität als die Kontrollen enthalten. Bei der mangelnden Kenntnis von der Funktion der alkalischen Nierenphosphatase vermögen wir aber auch diese Möglichkeit nicht näher zu begründen. Versuche an hungernden männlichen Ratten ergeben ebenfalls eine Erhöhung der Phosphataseaktivität (FALZONE u. Mitarb., 1963; BARROWS u. Mitarb., 1965). Unsere Befunde stehen also gewissermaßen im Einklang mit den Resultaten dieser Autoren. Die eigene Versuchsanordnung erlaubt zusätzlich eine feinere Differenzierung der Aktivitätsänderung der alkalischen Nierenphosphatase in hungrigen Ratten.

Der im gestreckten Hauptstück der Ratteniere bei chronischer Mangelernährung gefundene Aktivitätsabfall der alkalischen Phosphatase erscheint insofern weiterhin erwähnenswert, als er — im Gegensatz zu Aktivitätseinbußen unter anderen experimentellen Bedingungen — ohne wesentliche Veränderungen am Bürstensaum auftritt.

Fassen wir abschließend zusammen, so bieten zwar morphologische und histochemische Befunde übereinstimmend das Bild schwerer Veränderungen von Zellstrukturen und funktionellen Potenzen. Für eine Auffassung dieser Veränderungen als Zellschädigung ergeben sich hingegen keine sicheren Anhaltspunkte. Vielmehr sind die Veränderungen des proximalen Tubulus bei chronischer Mangelernährung als Anpassung der Zelle an die Belastung durch Eisenspeicherung, Hypoxie und Acidose sowie als Zeichen der Umstellung auf eine „vita minima“ zu verstehen.

Literatur

- ANDERSCH, M. A., and A. J. SZCZYPINSKY: Use of paranitrophenylphosphate as the substrate in determination of serum acid phosphatase. Amer. J. clin. Path. **17**, 571 (1947).
- BARROWS, CH. H., L. M. ROEDER, and D. D. FANESTIL: The effects of restriction of total dietary intake and protein intake, and of fasting interval on the biochemical composition of rat tissues. J. Geront. **20**, 374 (1965).
- BESSEY, O. A., O. H. LOWRY, and M. J. BROCK: A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. J. biol. Chem. **164**, 321 (1946).
- DEIMLING, O. v.: Die Darstellung phosphatfreisetzender Enzyme mittels Schwermetall-Simultanmethoden. Histochemie **4**, 48 (1964).
- , u. I. BAUSCH: Histochemische und quantitative Untersuchungen zur Verteilung der sauren Phosphatase in der Ratteniere. Histochemie **10**, 193 (1967).
- , G. NEUSCHÄFER-RUBE u. H. NOLTENTUS: Methodische Untersuchungen zur quantitativen und histologischen Verteilung der alkalischen Phosphatase in den Hauptstücken der Ratteniere. Histochemie **8**, 183 (1967).
- , U. RIEDEL, R. KLINGE u. J. BRÄMSWIG: Hormonabhängige Enzymverteilung in Geweben. VIII. Mitt. Die Phosphomonoesterasen der Ratteniere nach Extirpation verschiedener endokriner Drüsen. Histochemie (in Vorbereitung).
- , C. H. WESSELS, U. OTTERMANN u. H. NOLTENTUS: Hormonabhängige Enzymverteilung in Geweben. VII. Mitt. Die quantitative Verteilung der alkalischen Nierenphosphatase bei normalen Ratten beiderlei Geschlechts. Histochemie **8**, 200 (1967).

- FALZONE, J. A., and CH. H. BARROWS: The effect of dietary restriction on the activity and histochemical distribution of renal alkaline phosphatase in male rats. *J. Geront.* **18**, 240 (1963).
- GANSLER, H., et ROUILLER: Modifications physiologiques et pathologiques du chondriome. Étude au microscope électronique. *Schweiz. Z. Path.* **19**, 217 (1956).
- GLESE, W., u. R. HÖRTEBROCK: Pathologie des exogenen, quantitativen Nahrungsmangels. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie* Bd. XI, 1, S. 446. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962.
- GOMORI, G.: Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue sections. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **42**, 23 (1939).
- HRUBAN, Z., B. SPARGO, H. SWIFT, R. W. WISSLER, and R. G. KLEINFELD: Focal cytoplasmic degradation. *Amer. J. Path.* **42**, 657 (1963).
- KISSANE, J., and E. HOFF: Quantitative histochemistry of the kidney. II. Enzymatic activities in glomeruli and proximal tubules in aminonucleoside nephrosis in rats. *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 259 (1962).
- KITTLE, C. F., A. HIROSHI, and E. B. BROWN: The role of pH and CO₂ in the distribution of blood flow. *Surgery* **57**, 139 (1965).
- LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, and R. J. RANDALL: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- LUBARSCH, O.: Beiträge zur pathologischen Anatomie und Pathogenese der Unterernährungs- und Erschöpfungszustände. *Beitr. path. Anat.* **69**, 242 (1921).
- MAUNSBACH, A. B.: Observations on the ultrastructure and acid phosphatase activity of the cytoplasmic bodies in rat kidney proximal tubule cells. With a comment on their classification. *J. Ultrastruct. Res.* **16**, 197 (1966).
- REIMOLD, E.: Veränderungen des Wasser- und Mineralhaushalts im wachsenden Organismus unter dem Einfluß von Durst und Hunger. *Kinderärztl. Praxis* **32**, 219 (1964).
- ROHR, H. P.: Die funktionelle Bedeutung der Lysosomen unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. *Schweiz. med. Wschr.* **96**, 1712 (1966).
- ROUILLER, C., et H. GANSLER: Contribution à la pathologie des mitochondries. *Bull. Micr. appl.*, II. Ser. **5**, 17 (1955).
- TORHORST, J., H. P. ROHR, H. U. ZOLLINGER, A. STUDER u. J. P. TRANZER: Ultrastrukturelle Veränderungen der proximalen Tubuluszelle von Rattennieren nach Phenacetinüberbelastung. *Virchows Arch. path. Anat.* **342**, 70 (1967).
- VOLLAND, W., u. W. PRIBILLA: Die Pathologie des Stoffwechsels der Schwermetalle. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie* Bd. IV, 2, S. 88. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.
- ZIMMERMANN, W. E.: Veränderungen des Säure-Basen-Haushalts bei traumatischem und hämorrhagischem Schock, ihre Wirkungen auf die Nierendurchblutung und deren therapeutische Beeinflussung. *Habil.-Schrift Chirurg. Univ. Klinik Freiburg* (1965).

Dr. med. J. TORHORST
 Ludwig Aschoff-Haus, Patholog. Institut der Universität
 78 Freiburg i. Br., Albertstr. 19