

Über die Entstehung der peribiliären dichten Körper der Leberzellen

Untersuchungen in der prägeneratorischen Phase nach subtotaler Hepatektomie

I. BARTÓK*, V. TOTVIĆ und P. GEDIGK

Pathologisches Institut der Universität Marburg (Direktor: Prof. Dr. P. GEDIGK)

Eingegangen am 2. Mai 1967

On the Development of Peribiliary Dense Bodies in the Liver Cells Investigations in the Pre-Regenerative Phase after Subtotal Hepatectomy

Summary. The development and functional behaviour of various cytoplasmic organelles were observed in 12 rats during the first 24 hours after subtotal hepatectomy, i.e., during the preregeneratory phase.

In the tubulo-vesicular complexes of the smooth endoplasmatic reticulum and in the cysternae of the rough endoplasmatic reticulum as well as in the Golgi complexes increased numbers of electron-dense granula 300—1000 Å in diameter appeared. These had been incorporated by pinocytosis from Disse's spaces into the cytoplasm; in the Golgi vacuoles as well as in the peribiliary dense bodies they were condensed and transformed.

The Golgi apparatus was as a rule enlarged and hypertrophic. The increased peribiliary dense bodies (lysosomes) were formed first at the mature surface at the ends of the Golgi sacculi from Golgi vacuoles being separated here; second, they developed from separated Golgi sacculi or from larger fragments of them; third, some of the peribiliary dense bodies were so-called residual bodies from the autophagic vacuoles.

The microbodies were increased; we did not observe a metamorphosis into mitochondria or lysosomes.

Zusammenfassung. Bei 12 Ratten wurde in den ersten 24 Std nach einer subtotalen Hepatektomie, d.h. in der prägeneratorischen Phase, die Entstehung und das funktionelle Verhalten verschiedener Cytoplasmaorganellen verfolgt.

In den tubulo-vesiculären Komplexen des glatten und in den Zysternen des rauhen endoplasmatischen Reticulums sowie in den Golgi-Komplexen traten vermehrt 300—1000 Å große elektronendichte Granula auf, die durch Pinocytose aus den Disseschen Räumen in das Cytoplasma gelangten und in den Golgi-Vacuolen sowie in den peribiliären dichten Körpern kondensiert und umgewandelt wurden.

Der Golgi-Apparat war regelmäßig vermehrt und hypertrophisch.

Die vermehrten peribiliären dichten Körper (Lysosomen) bildeten sich erstens am Ende der Golgi-Säckchen — an der reifen Fläche — aus den sich dort abschnürenden Golgi-Vacuolen; zweitens entwickelten sie sich aus ganzen abgetrennten Golgi-Säckchen oder ihren größeren Fragmenten; drittens handelte es sich bei einem Teil von ihnen um sog. Restkörper („residual bodies“) der autophagischen Vacuolen.

Die Microbodies waren vermehrt; eine Umwandlung in Mitochondrien oder Lysosomen konnten wir nicht beobachten.

* Stipendiat der Alexander von Humboldt-Stiftung.

Während über die Regeneration des Leberparenchyms nach einer subtotalen Hepatektomie zahlreiche experimentelle licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen vorliegen, sind unsere Kenntnisse über die Ultrastruktur der präregenerativen Phase noch lückenhaft. Gerade in diesem Zeitabschnitt steht aber das verbliebene Lebergewebe unter einer besonderen funktionellen Beanspruchung, da es die Leistungen der entfernten zwei Drittel des Organes zusätzlich übernehmen und gleichzeitig die für die später einsetzende Regeneration benötigten Substanzen bereitstellen muß. Schon vor dem Beginn der eigentlichen regenerativen Vorgänge, die erfahrungsgemäß erst nach etwa 24 Std einsetzen (BUCHER, 1963; WEINBREN und TAGHIZADEH, 1965), laufen deshalb in dem Restparenchym gesteigerte Stoffwechselvorgänge ab, als deren morphologischer Ausdruck viele Zellorganellen einen Gestaltwandel erfahren und unter Umständen neu gebildet werden. Dadurch werden die Vorgänge der vielfach noch umstrittenen *formalen* Genese von Cytoplasmastrukturen verdeutlicht.

Die vorliegenden Untersuchungen galten der Frage nach dem *Verhalten* und der *Entstehung* von *Cytoplasmastrukturen* unter den Bedingungen extremer funktioneller Belastungen, und zwar besonders der als Verdauungszentren des Cytoplasma dienenden Lysosomen. Außerdem sollten weitere Kenntnisse über die noch umstrittene Natur und funktionelle Bedeutung der sog. elektronendichten Granula der Leberzellen gewonnen werden.

Zur Klärung dieser Probleme haben wir bei Ratten nach einer subtotalen Hepatektomie in regelmäßigen Abständen die Veränderungen im Cytoplasma der Leberzellen lichtmikroskopisch und elektronenoptisch verfolgt. Dabei beschränkten wir uns zunächst auf die Beobachtung der in den ersten 24 Std nach der Hepatektomie ablaufenden *präregeneratorischen Phase*, um eine Überlagerung des stoffwechselbedingten Gestaltwandels durch später einsetzende prämitotische Dedifferenzierungsvorgänge und regenerative Prozesse zu vermeiden.

Versuchsanordnung und Methoden

Bei 12 männlichen, 150–200 g schweren Wistar-Ratten wurde in einer Äthernarkose eine subtotale Hepatektomie durch Entfernung des linken und mittleren Leberlappens vorgenommen. Die Fütterung der Tiere erfolgte vor und während der Versuche mit Normalkost (Altromin-Würfel). Je 2 Tiere wurden 1, 2, 3, 8, 16 und 24 Std nach der Operation durch Nackenschlag getötet. Für elektronenmikroskopische Untersuchungen fixierten wir jeweils mehrere lebensfrisch entnommene Gewebstücke aus der Restleber in einer 1%igen gepufferten Osmiumtetroxydlösung nach CAULFIELD. Zur Schnittherstellung des in Vestopal W eingebetteten Materials verwendeten wir ein Porter-Blum-Ultramikrotom. Die elektronenoptischen Untersuchungen der mit Bleihydroxyd nachkontrastierten Dünnschnitte erfolgten mit einem Siemens-Elmiskop II, zum Teil auch mit einem Elmiskop I. Das restliche Gewebe wurde in einer 4%igen Formaldehydlösung fixiert und für lichtmikroskopische Untersuchungen verwendet. Zur Kontrolle wurden bei 4 Tieren „Scheinoperationen“ (einfache Laparatomie) in Äthernarkose durchgeführt und anschließend die Leber nach 1, 2, 3 und 8 Std elektronenoptisch und lichtmikroskopisch untersucht.

Untersuchungsergebnisse

Lichtmikroskopische Befunde

Unsere lichtmikroskopischen Beobachtungen stimmten mit älteren Untersuchungen überein (BUCHER, 1963), so daß wir uns auf wenige, für die vorliegende Fragestellung wichtige Angaben beschränken: In den ersten 8 Std nach der Operation wies die Restleber eine deutliche Hyperämie auf. Das Cytoplasma der Leberzellen war anfangs deutlich basophil. Lediglich bei Tieren, die 8 Std nach der Operation getötet worden waren, konnte eine Abnahme der Basophilie des Cytoplasma festgestellt werden. In den mit Sudan III/IV gefärbten

Schnitten war eine zunehmende, zunächst vornehmlich periphere, nach 16 Std jedoch diffuse, mittel- bis grobtropfige Verfettung der Leber- und Kupfferschen Sternzellen nachweisbar. Gleichzeitig kam es zu einem progredienten Schwund des Glykogens. Außerdem fanden sich im Cytoplasma vieler Leberzellen 1—3 Std nach der Operation zahlreiche bis zu 10 μ große, eosinophile, stark lichtbrechende, PAS-positive, diastase-resistente Körperchen. Bereits 1 Std nach der Operation fielen in einzelnen Leberzellen vergrößerte Kerne auf, deren Zahl im weiteren Verlauf zunahm. Häufig konnten auch 3—4 Nucleoli in den vergrößerten Zellkernen beobachtet werden. Nach 16 Std fanden sich vermehrt zweikernige Leberzellen; und nach 24 Std waren bereits zahlreiche Mitosen in den Parenchymzellen der Restleber nachweisbar.

Elektronenmikroskopische Befunde

Die ersten elektronenmikroskopischen Veränderungen an den Parenchymzellen der Restleber waren im Bereich der dem Disseschen Raum zugewandten Oberfläche (*basale oder Absorptionsoberfläche*) zu beobachten. Dort stellten sich nach 1—3 Std tiefe, verzweigte, ampulläre Einbuchtungen der Zellmembran dar. Auf tangentialen Anschnitten, bei denen ihre Verbindung mit dem Disseschen Raum manchmal nicht sicher nachweisbar war, wirkten sie mitunter wie intracelluläre, membranbegrenzte, große Vacuolen oder unregelmäßig gestaltete Hohlräume (Abb. 1). Auch die *intercellulären Spalträume* waren oft erweitert. Sie wirkten als zipfelförmige Ausstülpungen der Disseschen Räume zwischen benachbarten Leberzellen und reichten mitunter bis zu den Schlußleisten in der unmittelbaren Nähe der Gallenkanälchen. — Nach 8 Std bildeten sich diese Veränderungen an der Absorptionsoberfläche allmählich zurück; nach 16—24 Std waren sie nur noch selten nachweisbar. Die *Gallenkanälchen* zeigten in den ersten 8 Std keine nennenswerten Veränderungen. Erst 16—24 Std nach der Operation konnte eine zahlenmäßige Vermehrung und Erweiterung ihrer Lichtungen beobachtet werden. Zur gleichen Zeit waren auch die Mikrovilli an ihrer Innenseite stark reduziert, verkürzt und mitunter verbreitert.

Schon 1—2 Std nach der Operation fanden wir in den Disseschen Räumen, in den flachen Einfaltungen der Zellmembran zwischen den Mikrovilli und im Cytoplasma unmittelbar unter der Zellmembran in kleinen membranbegrenzten, offenbar pinocytotischen Bläschen — ähnlich wie früher auch JORDAN (1964), TROTTER (1964, 1965) sowie BADE (1965) — rundliche, etwa 300—1000 Å große, stark osmiophile, *elektronendichte Granula* (Abb. 1 und 2). Zu der gleichen Zeit, besonders ausgeprägt aber 8 Std nach der Teilhepatektomie, waren ähnliche Granula reichlich in den tubulo-vesiculären Profilen des glatten endoplasmatischen Reticulums (Abb. 1 und 3), sowie in den Golgi-Säckchen und -Vacuolen zu beobachten (Abb. 5). Seltener lagen sie in den Zisternen des rauen endoplasmatischen Reticulums. Nach 16—24 Std waren die Granula vorwiegend in Golgi-Säckchen und -Vacuolen sowie in benachbarten Partien des glatten endoplasmatischen Reticulums nachweisbar, während sie in Disseschen Räumen und in Pino-cytosebläschen nur noch vereinzelt anzutreffen waren (s. S. 8).

Eine Reduktion und Verkürzung sowie eine mäßige Desorganisation der normalerweise in parallelen Stapeln angeordneten flachen Zysternen des *rauen endoplasmatischen Reticulums* konnten 8 Std nach der Operation festgestellt werden. Zur gleichen Zeit waren auch umschriebene Auftreibungen der Ergastoplasmazisternen, und zwar meistens ihrer Endteile, zu beobachten. Im Bereich solcher Erweiterungen waren die anhaftenden Ribosomen partiell oder völlig



Abb. 1. Restleber 3 Std nach subtotaler Hepatektomie. Tiefe ampulläre, tangentiell angeschnittene Einbuchtung des Dissesechen Raumes in einer Leberzelle mit zahlreichen dichten Granula (\nearrow) in der Lichtung. Ähnliche Granula sind auch in den Tubuli und Vesikeln des glatten (\leftrightarrow) und in den Zysternen des rauhen (\leftrightarrow) endoplasmatischen Reticulums vorhanden.

N Zellkern, *Mb* Microbodies, *M* Mitochondrien. Vergr.: 17000 \times



Abb. 2. Sog. Absorptionsoberfläche einer Leberzelle (LZ) 8 Std nach subtotaler Hepatektomie. Dichte Granula (\nearrow) im Dissesechen Raum, zum Teil zwischen den Microvilli und in einer Invagination (\leftrightarrow) der Zellmembran sowie in Pinocytosebläschen (P). Zahlreiche Fetttröpfen (F). KZ Kupffersche Sternzelle. Vergr.: 33500 \times

dissoziiert. Die umschriebenen Erweiterungen der Zisternen bildeten sich bis zum Ende unserer Beobachtungszeit nicht zurück. — *Freie Ribosomen* (Polysomen) waren von 16 Std an vermehrt im Grundplasma nachweisbar.

Wesentlich stärker ausgeprägt waren die Veränderungen am *glatten endoplasmatischen Reticulum*. Es wies bereits 1—3 Std nach der Operation eine deutliche Hypertrophie auf, und zwar zunächst in den peripheren Zellabschnitten und im Bereich der Golgi-Felder, nach 8 Std jedoch im ganzen Zelleib. Neben dem vermehrten Auftreten vernetzter, oft perlschnurartig angeordneter Tubuli

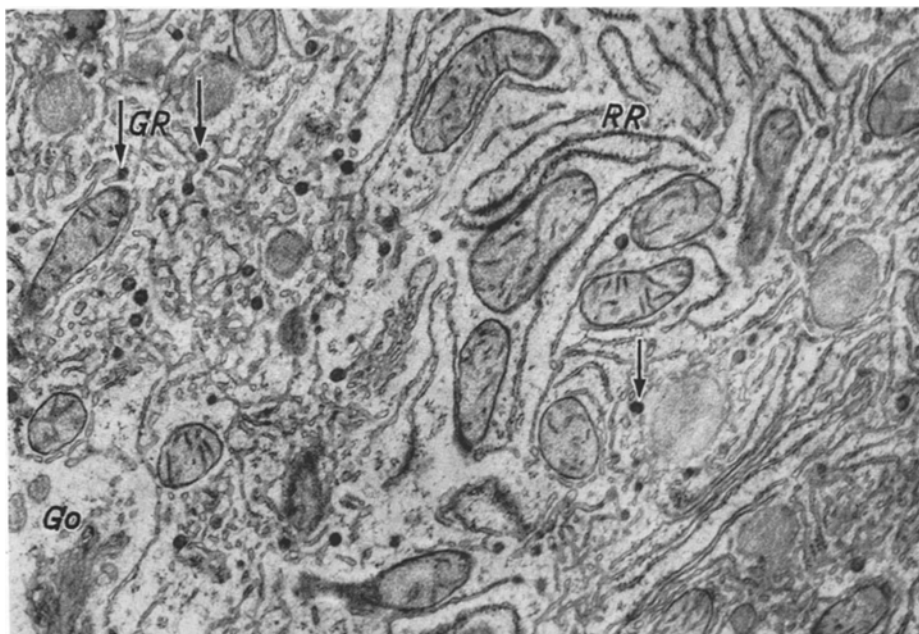


Abb. 3. Zahlreiche dichte Granula (↗) in den Tubuli und Vesikeln des hypertrophischen glatten endoplasmatischen Reticulums (GR) 8 Std nach subtotaler Hepatektomie. Go atrophischer Golgi-Komplex, RR rauhes endoplasmatisches Reticulum. Vergr.: 21500×

und Vesikel beobachteten wir auch kompaktere, kleinere, aus glattwandigen Elementen bestehende Knäuel (Abb. 4a) sowie größere, konzentrisch geschichtete Komplexe glatter Membranen, welche den „glatten Nebenkernen“ (THOENES und BANNASCH, 1962) entsprechen (Abb. 4b). 8 Std nach der Operation sahen wir außerdem mitunter in parallelen Reihen perlschnurartig angeordnete glatte Tubuli und Vesikel, die sogar in längliche, flache, den Ergastoplasmazisternen ähnliche — allerdings glattwandige — Profile übergingen. Stellenweise war auch eine beginnende Besetzung solcher Membranen mit einzelnen Ribosomen, also eine partielle Umwandlung des glatten in das raue endoplasmatische Reticulum, zu beobachten.

Bereits 1 Std nach der Teilhepatektomie traten regelmäßig Veränderungen im Bereich des *Golgi-Apparates* auf. Die Golgi-Komplexe waren vermehrt und vergrößert. Ihre Säckchen (Sacculi) waren zum Teil diffus, meistens jedoch an

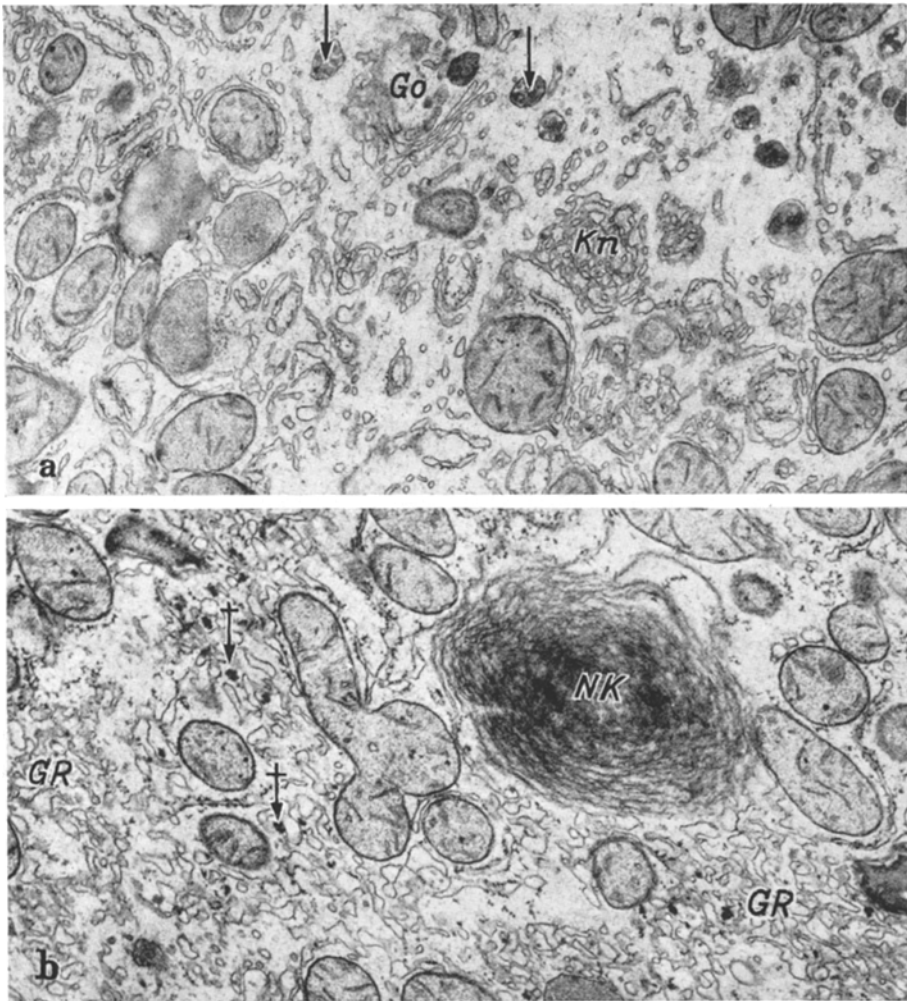


Abb. 4 a u. b. Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Reticulums in den Leberzellen 8 Std nach subtotaler Hepatektomie mit Ausbildung von kleinen, aus tubulo-vesiculären Elementen bestehenden Knäueln (*Kn*) und einem glatten „Nebenkern“ (*NK*). Atrophischer Golgi-Komplex (*Go*), dessen fragmentierte Säckchen sich kaum von den Profilen des glatten endoplasmatischen Reticulums unterscheiden lassen. Dichte Granula in Golgi-Vacuolen (\nearrow). Glykogengranula (\downarrow) sind nur noch vereinzelt zwischen glattwandigen Tubuli und Vesikeln zu sehen (b). Vergr.: 20000 \times

beiden Enden, erweitert und enthielten zahlreiche dichte osmiophile Granula (Abb. 5).

Die hypertrophischen Golgi-Komplexe waren deutlich polarisiert. An einem Pol, der sog. bildenden Fläche („forming face“) standen die Golgi-Säckchen in einem sehr engen Kontakt mit den tubulovesiculären Elementen des glatten endoplasmatischen Reticulums (Abb. 5), der nicht selten durch perlschnurartig angeordnete kleine Vesikel vermittelt wurde. Eine echte Verbindung bzw. ein

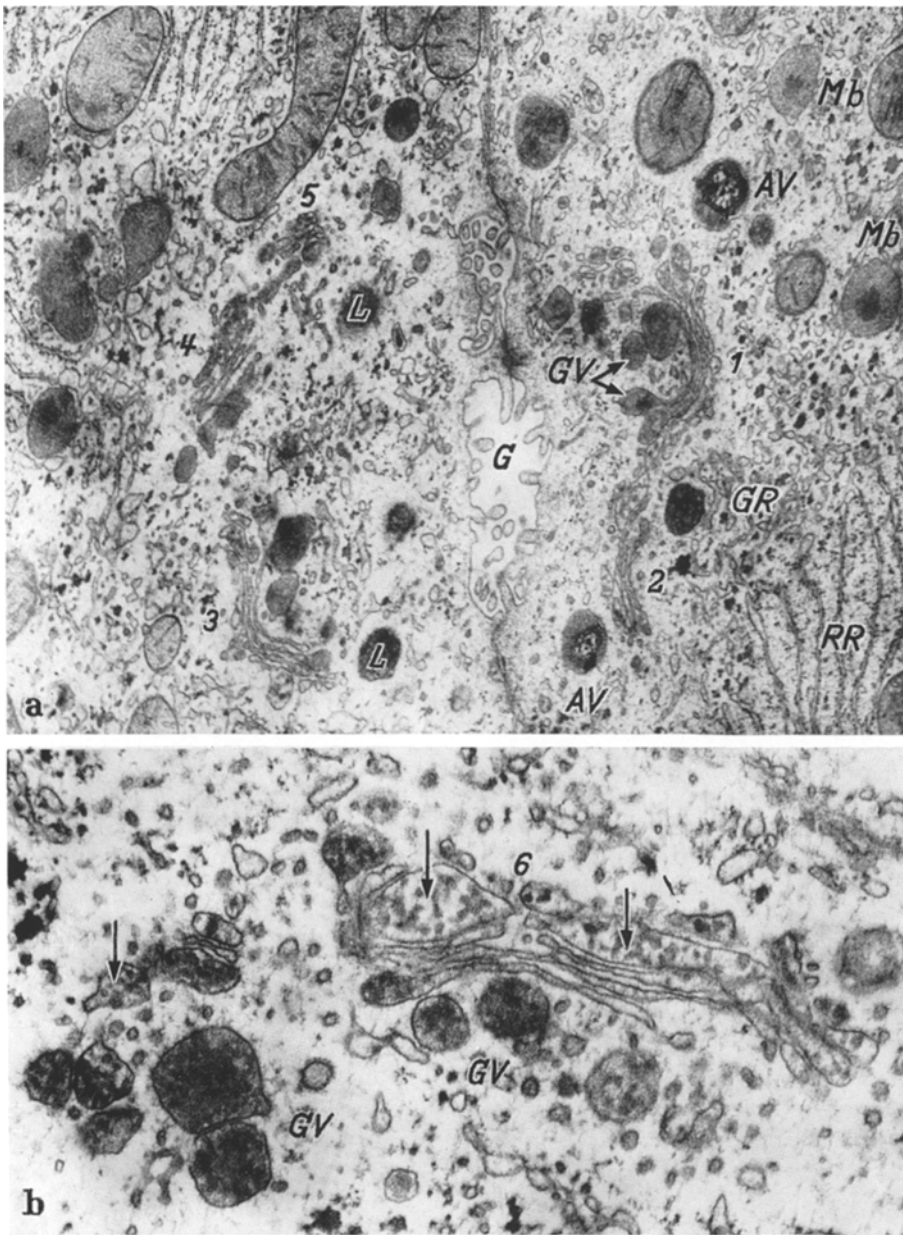


Abb. 5a u. b. Hypertrophische und deutlich polarisierte Golgi-Komplexe (1, 2, 3, 4, 5, 6) in Leberzellen 1 Std nach subtotaler Hepatektomie. Enge Beziehungen zwischen den tubulovesiculären Elementen des glatten endoplasmatischen Reticulums und den Golgi-Säckchen an der „bildenden“ Fläche sind besonders bei 1 und 6 zu sehen. An der „reifenden“ Fläche zahlreiche, sich zum Teil abschnürende Golgi-Vacuolen (GV) mit kondensiertem, elektronendichtem Inhalt. Sie zeigen alle Übergänge zu Lysosomen (L). In erweiterten Golgi-Säckchen und -Vacuolen dichte Granula (\nearrow). Vergr.: a 17000 \times , b 36000 \times

Übergang zwischen den Lumina des glatten endoplasmatischen Reticulums und den Golgi-Säckchen war allerdings nicht nachweisbar. An diesem Pol waren die dichten Granula in den Säckchen lockerer verteilt. Am entgegengesetzten Pol der Golgi-Komplexe, der sog. reifenden Fläche („mature face“) lagen in vermehrter Zahl Golgi-Vacuolen (Abb. 5), die offenbar durch eine Abschnürung der erweiterten Säckchenendteile entstanden waren. Hier lagen die dichten Granula in den Säckchen und Vacuolen enger nebeneinander.

In den Golgi-Vacuolen kam es außerdem zu einer Kondensation des dichten granulären Materials: Die Umrisse der Granula wurden unscharf, ihre Dichte steigerte sich, bis sie schließlich zu einer homogenen amorphen elektronendichten Masse zusammenflossen (Abb. 5). Die auf diese Weise umgewandelten Golgi-Vacuolen glichen häufig den in dieser Zellregion liegenden *peribiliären dichten Körpern* (Lysosomen), welche ebenfalls vermehrt anzutreffen waren (Abb. 5). Die Abschnürung der Golgi-Vacuolen und ihre weitere Umwandlung in peribiliäre dichte Körper verlief mitunter so intensiv, daß einzelne Golgi-Komplexe fast nur noch aus Golgi-Vacuolen bestanden.

8 Std nach der Operation war die Struktur der Golgi-Komplexe in einem großen Teil der Leberzellen weiter verändert. Anstelle der zunächst hypertrophischen Golgi-Komplexe fanden sich nunmehr nicht selten kleinere, nur aus zwei bis drei flachen Säckchen bestehende Golgi-Elemente. Die Zahl der granulahaltigen Golgi-Vacuolen war ebenfalls reduziert. Die Golgi-Felder waren häufig nicht mehr eindeutig von dem vermehrten und hypertrophierten glatten endoplasmatischen Reticulum abgrenzbar. So unterschieden sich manchmal derartige „hypoplastische“ Golgi-Komplexe kaum von den in parallelen Reihen angeordneten Tubuli und Vesikeln des glatten endoplasmatischen Reticulums (Abb. 3 und 4). Auch die peribiliären dichten Körper waren in diesen Zellen vermindert.

16 Std nach der Operation waren die Golgi-Felder fast in allen Leberzellen erneut gut ausgebildet und enthielten große, manchmal sogar wieder hypertrophische Golgi-Komplexe. In den erweiterten Endteilen der Golgi-Säckchen traten jetzt erneut zahlreiche dichte Granula auf. Außerdem traf man häufig Golgi-Säckchen, die diffus oder an umschriebenen Stellen von einem amorphen, mäßig elektronendichten Material ausgefüllt waren. Die mit granulärem oder bereits kondensiertem Material ausgefüllten Golgi-Vacuolen stellten sich ebenfalls vermehrt dar.

Die *peribiliären dichten Körper*, die nach der heutigen Auffassung zu der Gruppe der *Lysosomen* zählen, waren bis auf eine vorübergehende Verminderung 8 Std nach der Operation während der ganzen Versuchszeit deutlich vermehrt und standen in engen Beziehungen zum Golgi-Apparat. Wie bereits erwähnt, wiesen die synchron gesteigerte Bildung von Golgi-Vacuolen und von peribiliären dichten Körpern ebenso wie die morphologischen Übergänge zwischen beiden Strukturen auf eine Umwandlung der Golgi-Vacuolen in Lysosomen hin (Abb. 5).

Besonders in späteren Versuchsstadien (16—24 Std nach der Teilhepatektomie) fanden sich häufig eigentümliche Gebilde, die auf einen weiteren Weg für die Entstehung von peribiliären dichten Körpern (Lysosomen) hinwiesen. Dabei handelte es sich um längliche, glattwandige, an einem oder beiden Enden kolbig aufgetriebene, manchmal hantelförmige Membranprofile, die den aus dem Verband abgetrennten Golgi-Säckchen ähnelten (Abb. 6a und c). Ihre Auftreibungen waren von einem homogenen amorphen elektronendichten Material ausgefüllt.

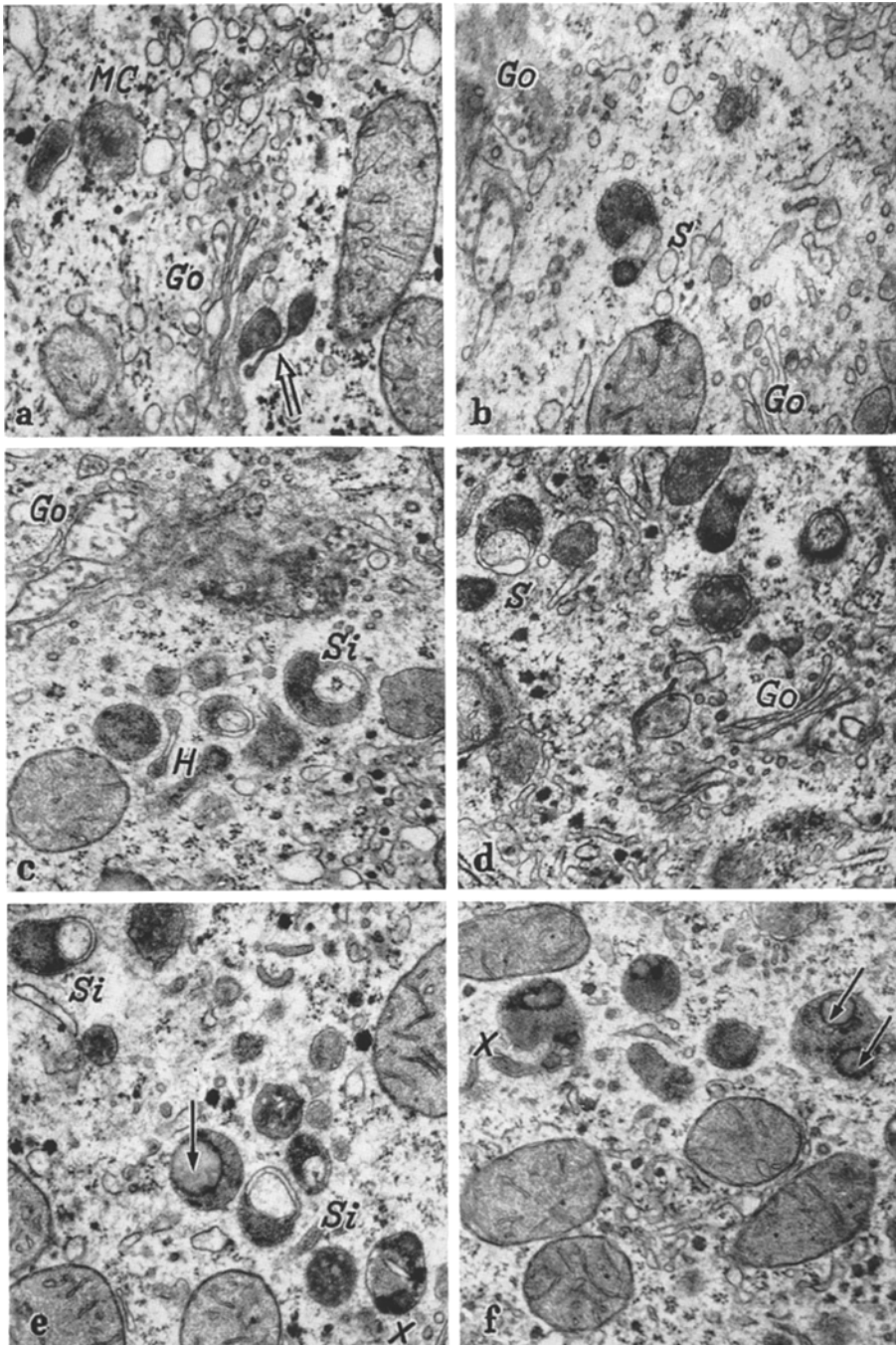


Abb. 6a—f. Ausbildung von Lysosomen aus abgetrennten Golgi-Säckchen oder ihren größeren Fragmenten (\Rightarrow). Hantel- (*H*), siehel- (*S*), siegelringförmige (*Si*) und unregelmäßig gestaltete (*X*) Profile in der Nähe der Golgi-Komplexe (*Go*). Daneben peribiliäre dichte Körper mit einer oder mehreren randständigen vacuoligen Aufhellungen (\nearrow). *MC* Microbody.

Vergr.: 22000 \times

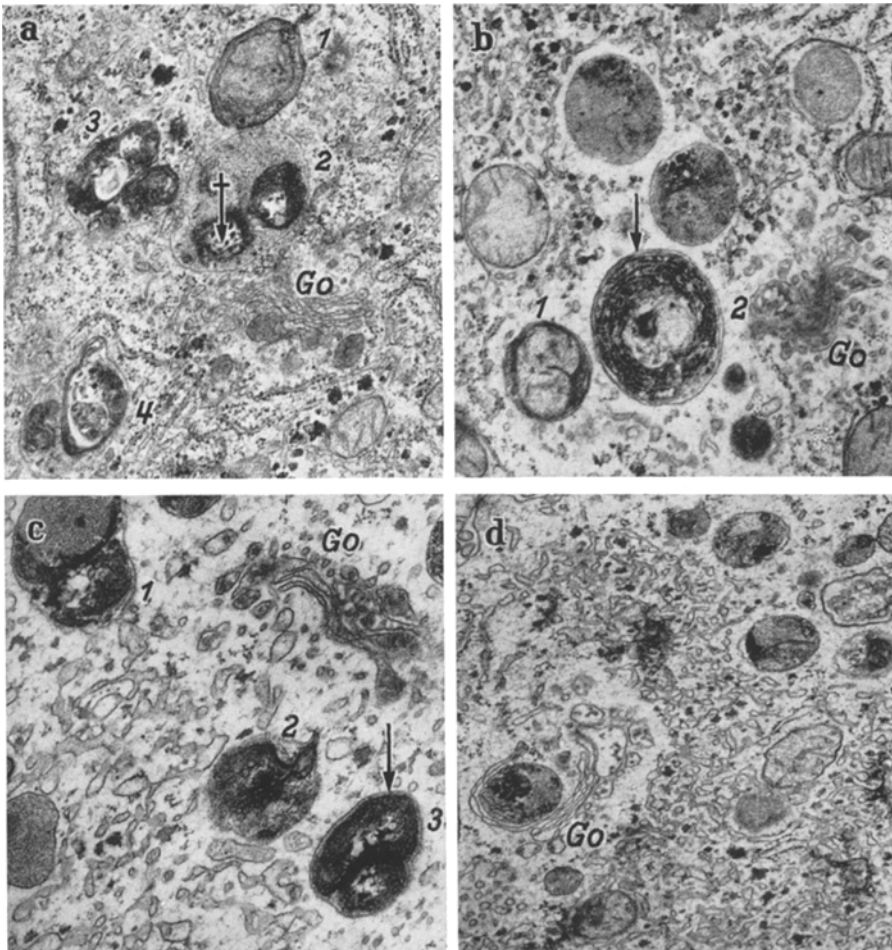


Abb. 7. Zahlreiche autophagische Vacuolen (AV) in der Leberzelle 1 (a—c) und 3 Std (d) nach subtotaler Hepatektomie. Sie liegen in unmittelbarer Nähe der Golgi-Komplexe (Go), sind von einer einfachen Membran begrenzt (↗) und enthalten demarkierte Cytoplasmaanteile wie Fragmente des rauen (b, 2) endoplasmatischen Reticulums, Glykogengranula (→) und Mitochondrien (a und b, 1). In d ist eine autophagische Vacuole von Golgi-Säckchen konzentrisch umgeben. Vergr.: 18000×

Sehr oft waren diese Strukturen sichelförmig gebogen, wobei sich beide Enden berührten (Abb. 6b und d). Daneben traf man auf siegelringförmige, doppelwandige Profile (Abb. 6c, d und e), die offenbar durch eine Verschmelzung der Grenzmembranen von sich berührenden Enden sichelförmiger Strukturen entstanden waren. In ihrem Zentrum fanden sich sequestrierte Anteile des Grundplasma, die mitunter freie Ribosomen (Polysomen) einschlossen. Schließlich konnten etwa gleichgroße peribiliäre dichte Körper beobachtet werden, in denen sich eine runde, meist randständige vacuolige Aufhellung darstellte (Abb. 6e und f). An der Peripherie dieser Aufhellungen war häufig eine verdichtete schmale Randzone erkennbar. Bei der genauen Analyse dieser Strukturen zeigte es sich,

daß die verdichtete Zone offenbar durch den Zerfall der ursprünglich inneren Membran der doppelwandigen siegelringförmigen Gebilde entstanden war, so daß auf diese Weise ein Übergang in peribiliäre dichte Körper (Lysosomen) erfolgte.

Manchmal waren auch weniger regelmäßig gestaltete doppelwandige Gebilde (Abb. 6f) und größere, von einer einfachen Membran begrenzte dichte Körper zu sehen, die mehrere vacuolige Aufhellungen in ihrem Inneren aufwiesen. Die Entstehung solcher Körper ist schwieriger zu deuten. Es wäre möglich, daß sie sich durch eine Konfluenz von mehreren aus den siegelringförmigen Gebilden entstandenen peribiliären dichten Körpern entwickelt haben.

In den ersten 3 Std nach der Teilhepatektomie traten vorwiegend in der Umgebung von Golgi-Komplexen der Leberzellen, daneben aber auch in anderen Cytoplasmabezirken, zahlreiche, bis zu 5 μ große, von einer einfachen Membran („unit membrane“) begrenzte *autophagische Vacuolen* auf, die den eosinophilen, PAS-positiven Körpern in den lichtmikroskopischen Bildern entsprachen. Sie enthielten in ihrem Innern mehr oder weniger gut erhaltene Cytoplasmabestandteile wie Mitochondrien (Abb. 7a und b), Fragmente des glatten und rauhen (Abb. 7b) endoplasmatischen Reticulum sowie Glykogengranula (Abb. 7a). Die eingeschlossenen Cytoplasmaorganellen wurden im Lauf der Zeit verdichtet, schrumpften und zeigten schließlich einen bröckeligen Zerfall. Nicht selten bildeten sich hier lamellär geschichtete, myelinfigurenähnliche Strukturen (Abb. 7c). 8 Std nach der Operation und später war der Inhalt der autophagischen Vacuolen so weitgehend abgebaut, daß strukturelle Einzelheiten nicht mehr — oder nur noch sehr selten — zu erkennen waren. Sie ließen sich dann nicht mehr von den übrigen peribiliären dichten Körpern unterscheiden.

Schließlich konnten wir während der ganzen Versuchsdauer eine Vermehrung der bereits normalerweise in den Leberzellen vorhandenen *Microbodies* und gelegentlich auch der *multivesiculären Körper* beobachten (Abb. 1a). Ein zunehmender Schwund des Glykogens war in den Parenchymzellen der Restleber bereits in den ersten Stunden nach der Teilhepatektomie erkennbar. Entsprechend den lichtmikroskopischen Befunden waren nach 8 Std nur noch vereinzelt Glykogengranula zwischen den tubulo-vesiculären Elementen des glatten endoplasmatischen Reticulum zu sehen. Diese Verminderung des Glykogens blieb bis zum Ende unserer Versuchsreihe bestehen. Gleichzeitig kam es — ebenfalls in Übereinstimmung mit den Beobachtungen an den üblichen histologischen Präparaten — zu einem vermehrten Auftreten von *Fetttröpfchen*, die nach 16–24 Std im Cytoplasma der Leberzellen häufig dicht gelagert waren.

Die *Mitochondrien* zeigten im allgemeinen während der ganzen Versuchszeit keine wesentlichen strukturellen Veränderungen.

Diskussion

I.

Das Auftreten *kleiner, elektronendichter Granula* in den Lichtungen von Sinusoiden, in Disseschen Räumen, in Pinocytosebläschen, im glatten endoplasmatischen Reticulum sowie im Golgi-Apparat wurde bereits unter normalen Bedingungen (CAESAR, 1961; BRUNI und PORTER, 1965) und bei verschiedenen Leberschäden (JÉZÉQUEL, 1958; ASHWORTH u. Mitarb., 1961, 1965; CONFER und STENGER, 1964; TROTTER, 1964, 1965; BADE, 1965) beobachtet. Trotzdem sind ihre Natur sowie ihr Transport und ihre Verarbeitung im Cytoplasma noch umstritten. Die meisten Autoren nehmen an, daß es sich um partikuläres Fett handelt, welches aus dem Blut in die Leberzellen aufgenommen wird, im Cyto-

plasma zu größeren Fetttröpfchen zusammenfließt und zu einer Verfettung der Zellen führt. Demgegenüber sehen BRUNI und PORTER (1965) in den dichten Granula das morphologische Substrat für die in den Leberzellen synthetisierten Plasmaproteine, die im Golgi-Komplex angereichert und dann in die Disseschen Räume ausgestoßen werden. Beide Auffassungen sind nicht nur hinsichtlich der chemischen Natur der Granula verschieden; sie vertreten auch entgegengesetzte Meinungen über ihren Transport durch die Zelle.

Da eine Isolierung der dichten Granula noch nicht gelungen ist und sie wegen ihrer Kleinheit bisher keiner histochemischen Untersuchung unterworfen werden konnten, lassen sich über ihre chemische Beschaffenheit vorerst nur Hypothesen diskutieren: Ihre in unkontrastierten Dünnschnitten sehr ausgeprägte Osmiophilie, welche die übliche Affinität von Proteinen für Osmiumtetroxyd bei weitem übertrifft, weist darauf hin, daß sie Lipide enthalten. Daß es sich um reine Lipidtröpfchen handelt, ist jedoch unwahrscheinlich, weil sie niemals zu Fetttröpfchen zusammenfließen und auch ihre Entstehung aus Fetttröpfchen ebenfalls nicht beobachtet worden ist. Auch in ihrer Struktur weichen sie von den typischen intracytoplasmatischen Fetteinschlüssen ab. In Übereinstimmung mit JORDAN (1964) sind wir deshalb der Ansicht, daß die dichten Granula zwar zu einem wesentlichen Teil aus Lipiden bestehen, daß sie daneben aber Proteine enthalten oder an Eiweißkörper gebunden sind.

Durch die bei unseren Experimenten erzielte Anreicherung der dichten Granula im Cytoplasma ergaben sich auch Hinweise auf ihren Transport durch die Zelle. Am Beginn der Versuche fanden sie sich besonders reichlich in den Disseschen Räumen und in den unmittelbar unter der Zellmembran gelegenen pinocytotischen Bläschen. Erst später (nach 2—3 Std) waren sie in tieferen Zellabschnitten anzutreffen, und zwar vor allem in den tubulo-vesiculären Komplexen des glatten und — seltener — in den Zisternen des rauhen endoplasmatischen Reticulum sowie auch schließlich in den Golgi-Komplexen. Da sie im glatten und rauhen endoplasmatischen Reticulum ihre submikroskopischen morphologischen Eigenschaften nicht änderten, erfolgt in diesen Organellen offenbar ihr Transport durch das Cytoplasma. Ihre Anreicherung im Golgi-Apparat dürfte demgegenüber nicht nur die Folge eines verlangsamten Transportes auf der Endstrecke des glatten endoplasmatischen Reticulum (PALAY und KARLIN, 1959), sondern vor allem der Ausdruck einer hier stattfindenden Weiterverarbeitung sein. Dafür spricht unter anderem die Beobachtung, daß in den Golgi-Vacuolen und in den aus ihnen hervorgehenden peribiliären dichten Körpern (Lysosomen) eine Kondensation und Umwandlung der dichten Granula zu einem amorphen, homogenen Material stattfindet, das sich schließlich nicht mehr von dem übrigen Inhalt dieser Organellen abgrenzen läßt.

Aus diesen Befunden möchten wir somit den Schluß ziehen, daß den „dichten Granula“ kleine, aus dem Blut pinocytotisch in die Leberzelle aufgenommene proteinhaltige Lipidpartikel zugrunde liegen, die offenbar auf verschiedenen Wegen — vornehmlich aber über das endoplasmatische Reticulum — in den Golgi-Apparat gelangen und dort ebenso wie in den sich von ihm ableitenden peribiliären dichten Körpern (Lysosomen) verarbeitet bzw. abgebaut werden.

II.

Die Vermehrung und Hypertrophie des *Golgi-Apparates* gehörten bei unseren Experimenten zu den konstantesten Befunden. Sie gingen mit einer betonten Polarisierung der Golgi-Komplexe einher (vgl. auch NOVIKOFF und SHIN, 1963). Im Bereich der sog. bildenden Fläche („forming face“) entstanden neue Golgi-

Säckchen aus dem glatten endoplasmatischen Reticulum. Außerdem traten hier offenbar die dichten Granula wie auch andere Stoffe, z.B. Fermente, in den Golgi-Komplex ein. An der sog. reifenden Fläche („mature face“) schnürten sich die von kondensierten dichten Granula und anderen Stoffen ausgefüllten Vacuolen von den Golgi-Säckchen ab. Da unter unseren Versuchsbedingungen in den ersten Stunden die Abschnürung der Golgi-Vacuolen intensiver als die Neubildung der Säckchen an der bildenden Fläche verlief, kam es zu einem vorübergehenden Verbrauch der Golgi-Membranen und somit zu einer Verkleinerung der Golgi-Komplexe. Sobald die vermehrte Neubildung der Golgi-Säckchen aus dem glatten endoplasmatischen Reticulum in Gang gesetzt wurde — d. h. noch vor dem Beginn der regenerativen Vorgänge — waren wieder normale und hypertrophische Golgi-Komplexe zu sehen.

III.

Ähnlich wie JORDAN (1964) konnten wir eine deutliche Vermehrung der *peribiliären dichten Körper* beobachten. Da in ihnen die Anwesenheit des lysosomalen Leitenzyms, der sauren Phosphatase, nachgewiesen worden ist, sind sie nach heutiger Auffassung in die Gruppe der Lysomen einzuordnen (DE DUVE, 1963; NOVIKOFF, 1963).

Bei der in unseren Versuchen erzielten verstärkten und beschleunigten Bildung der peribiliären dichten Körper waren auch die Zwischenstufen ihrer Entstehung reichlicher als unter normalen Bedingungen zu beobachten, so daß sich Rückschlüsse auf ihre noch nicht gesicherte formale Genese ergaben. Dabei zeigten sich folgende Entstehungsmechanismen:

Erstens entsteht ein Teil der Lysosomen offenbar unmittelbar aus den von dem Endteil der Golgi-Säckchen an der reifen Fläche sich abschnürenden *Golgi-Vacuolen*. Dabei gelangt auch der Inhalt dieser Vacuolen in die Lysosomen, wo seine weitere Verarbeitung stattfindet. In unserem Fall waren das besonders die erwähnten dichten Granula. Die Möglichkeit einer Umwandlung von Golgi-Vacuolen in Lysosomen wurde bereits von NOVIKOFF u. Mitarb. (1964) in sekretorischen Zellen und in Ganglienzellen vermutet, jedoch bisher noch nicht bewiesen.

Zweitens beobachteten wir noch eine weitere Art der Bildung von peribiliären dichten Körpern, der bisher in der Literatur nur geringe Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Bei diesem Vorgang finden sich — vorwiegend in späteren Versuchsstadien (nach 16—24 Std) — zum Teil längliche, hantelförmige, zum Teil gebogene, sichel- und siegelringförmige Membranprofile, die alle Übergänge zu den typischen Lysosomen aufweisen (Abb. 6 und 8). Aus zahlreichen Bildern geht hervor, daß diese Gebilde aus *abgetrennten Golgi-Säckchen* oder ihren größeren Fragmenten entstehen, die sich in der oben beschriebenen Weise allmählich zu lysosomenartigen Granula umformen (s. S. 8). Die in den Auftreibungen vorhandene amorphe elektronendichte Substanz läßt sich im Elektronenmikroskop vorerst noch nicht genau definieren. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, daß sie sich, wenigstens teilweise, von homogenisierten Konglomeraten der dichten Granula herleitet.

Drittens handelt es sich bei einem Teil der vermehrten peribiliären dichten Körper um sog. Restkörper („residual bodies“) der in den ersten Stunden nach der Teilhepatektomie massenhaft auftretenden *autophagischen Vacuolen* (DE DUVE, 1963), die auch Cytolysomen (ESSNER und NOVIKOFF, 1962) „focal cytoplasmic degradations“ (HRUBAN u. Mitarb., 1963) oder Cytosegresomen (ERICSSON u.

Mitarb., 1965) genannt werden. Sie stellen umschriebene Untergangsherde des Cytoplasma oder einzelner Cytoplasmaorganellen dar, welche vom übrigen erhaltenen Cytoplasma durch eine einfache Membran abgetrennt werden. Der Nachweis der sauren Phosphatase, des lysosomalen Leitenzyms, berechtigt ihre Einordnung in die Gruppe der Lysosomen (DE DUVE, 1963; NOVIKOFF, 1963).

Die Morphogenese der autophagischen Vacuolen kann offenbar auf verschiedenem Wege erfolgen: ASHFORD und PORTER (1962) nehmen an, daß autolytische bzw. nekrotische Cytoplasmaherde durch eine vom Grundplasma neu gebildete Membran von den lebenden Zellanteilen demarkiert werden. Andere Autoren meinen, daß die Grenzmembran aus präexisierenden Cytomembranen entsteht und zwar entweder aus dem endoplasmatischen Reticulum (HRUBAN u. Mitarb., 1963; NOVIKOFF und SHIN, 1964) oder aus den Membranen des Golgi-Komplexes (NOVIKOFF und ESSNER, 1962; BRANDES u. Mitarb., 1964; CONFER und STENGER, 1964). Aufgrund unserer Untersuchungen gelangen wir zu der Ansicht, daß bei ungewöhnlich starker funktioneller Belastung beide Mechanismen vorkommen können. Hauptsächlich beteiligten sich unter unseren experimentellen Bedingungen präexistente Cytomembranen an der Bildung der Grenzmembranen der autophagischen Vacuolen. Das zeigte sich besonders bei autophagischen Vacuolen, deren Grenzmembran ganz oder zum Teil doppelt konturiert war und in engen Beziehungen zu den angrenzenden Tubuli des glatten endoplasmatischen Reticulum oder zu Golgi-Säckchen stand. Die Bildung neuer demarkierender Membranen aus dem Grundplasma trat demgegenüber mehr in den Hintergrund.

Da autophagische Vacuolen, wenn auch nur vereinzelt, in normalen Leberzellen vorkommen, ist anzunehmen, daß sie eine Rolle bei der physiologischen Mauserung („turn over“) der Cytoplasmaorganellen spielen (ASHFORD und PORTER, 1962; BRUNI und PORTER, 1965). Die reichliche Entstehung von umschriebenen Cytoplasmauntergängen (Cytoplasmanekrobiosen) in den ersten Stunden nach der subtotalen Hepatektomie weist darauf hin, daß es infolge der extremen funktionellen Beanspruchung des Restparenchyms zu einer gesteigerten Mauserung der Zellorganellen kommt, als deren Ausdruck dann zahlreiche autophagische Vacuolen auftreten.

Eine Bildung der autophagischen Vacuolen durch eine operativ verursachte Zellschädigung läßt sich anhand unserer Experimente zwar nicht ganz ausschließen; sie spielt in Anbetracht der vorliegenden Kontrolluntersuchungen aber keine nennenswerte Rolle. Als Ausdruck einer Zelldifferenzierung vor der Mitose (BECKER und LANE, 1965) möchten wir das vermehrte Auftreten von autophagischen Vacuolen nicht deuten, zumal die Autophagocytose am reichlichsten in den ersten 3 Std nach der Operation auftritt, d.h. in einer Phase, in der wegen der ungewöhnlichen funktionellen Beanspruchung zwar alte Organellen abgebaut und gleichzeitig neue gebildet werden, während Zeichen einer prämitotischen bzw. präregeneratorischen Dedifferenzierung noch nicht erkennbar sind.

Unsere Experimente bestätigen somit die Tatsache, daß *unter der Bezeichnung „Lysosomen“ verschiedene, von einer einfachen Membran begrenzte Cytoplasmakörper zusammengefaßt werden*, deren wesentliches gemeinsames chemisches Merkmal offensichtlich die Anwesenheit saurer Hydrolasen, besonders der sauren Phosphatase, ist. Ihre kausale und formale Genese ist aber ebenso wie ihre Innenstruktur uneinheitlich.

So zeigte es sich, daß vornehmlich der Golgi-Apparat der Leberzellen bei der Ausbildung von Lysosomen beteiligt ist, und zwar nicht nur durch die von

NOVIKOFF und ESSNER (1962), NOVIKOFF (1963), NOVIKOFF, ESSNER und QUINTANA (1964) vermutete Abschnürung offenbar fermenthaltiger Golgi-Vesikeln („primäre“ Lysosomen), sondern bei ungewöhnlichen funktionellen Belastungen außerdem auch durch die Abtrennung von Golgi-Vacuolen und sogar ganzer Golgi-Säckchen (s. Schema). Daneben entsteht ein Teil durch Autophagocytose (s. S. 11). Die durch eine Phagocytose oder Pinocytose entstehenden Lysosomen (s. auch WESSEL, GEDIGK und GIERBERG, 1966) haben wir nach der subtotalen Hepatektomie nur selten beobachtet.

Auf den ersten Blick stellt sich daher vielleicht die Frage, ob diese formal- und kausalgenetisch so verschiedenen Strukturen durch verschiedene Bezeichnungen voneinander abgegrenzt werden sollten. Dem steht jedoch entgegen, daß sie sich — trotz ihrer morphologischen Unterschiede am Anfang ihrer Entstehung — in den Endstadien elektronenoptisch zunehmend einander angleichen und dann nicht mehr unterschieden werden können. Auch ihre zunächst verschiedenen chemischen Eigenschaften stimmen schließlich weitgehend überein, und zwar besonders hinsichtlich ihrer Ausstattung an hydrolytischen Enzymen. Nicht zuletzt aber ist auch ihre funktionelle Bedeutung im weiteren Sinn übereinstimmend: Die Lysosomen verschiedener Genese sind gewissermaßen Verdauungszentren der Zelle, und zwar für zelleigene abzubauen (endogene) Substanzen ebenso wie für phagocytotisch bzw. pinocytotisch von außen aufgenommene (exogene) Stoffe (DE DUVE, 1963; NOVIKOFF, 1963; WESSEL, GEDIGK und GIERBERG, 1966). Unter diesem Gesichtspunkt stellen sie weitgehend funktionell einheitliche und verwandte Cytoplasmastrukturen dar. Ihre Unterscheidung sollte — wenn überhaupt — nur in ihren noch auf die Herkunft hinweisenden Anfangsstadien, nicht aber in älteren, weitgehend einheitlichen Endstadien vorgenommen werden.

IV. Verhalten der übrigen Organellen und Zellbestandteile in der präregeneratorischen Phase nach subtotaler Hepatektomie

1. *Zelloberfläche.* Die beobachteten tiefen Einbuchtungen der basalen Zellmembran (*Absorptionsoberfläche*), die keilförmigen Erweiterungen der intercellulären Spalträume und die Veränderungen im Bereich der Gallenkanälchen (*Sekretionsoberfläche*), die mitunter — wenn auch in wesentlich geringerem Umfang — auch in der normalen Leber beobachtet werden können (COSSEL, 1964), sind offenbar Ausdruck der für den gesteigerten Stoffaustausch benutzten Vergrößerung der Zelloberfläche. Dabei steht zunächst der Stoffaustausch mit dem Blut im Vordergrund, so daß anfangs vornehmlich die den Sinusoiden zugewandte basale bzw. *Absorptionsoberfläche* der Zellen vergrößert wird. — Erst in späteren Versuchsstadien kommt auch eine Erweiterung und Vermehrung der Gallenkanälchen und somit eine Vergrößerung der *Sekretionsoberfläche* zustande.

2. *Endoplasmatisches Reticulum.* Erweiterungen des *rauen endoplasmatischen Reticulums* waren in unserem Material weniger als in den Versuchen von DAVIS (1962) sowie FISCHER und FISCHER (1963) ausgeprägt. Nach FISCHER und FISCHER (1963) treten diese Veränderungen auch nach einer Unterernährung der Versuchstiere, nach portokavaler Anastomose — mit oder ohne anschließende Teilhepatektomie — sowie nach einer Scheinoperation auf und sind somit Ausdruck einer unspezifisch gesteigerten Zellaktivität, wie man sie mitunter auch bei

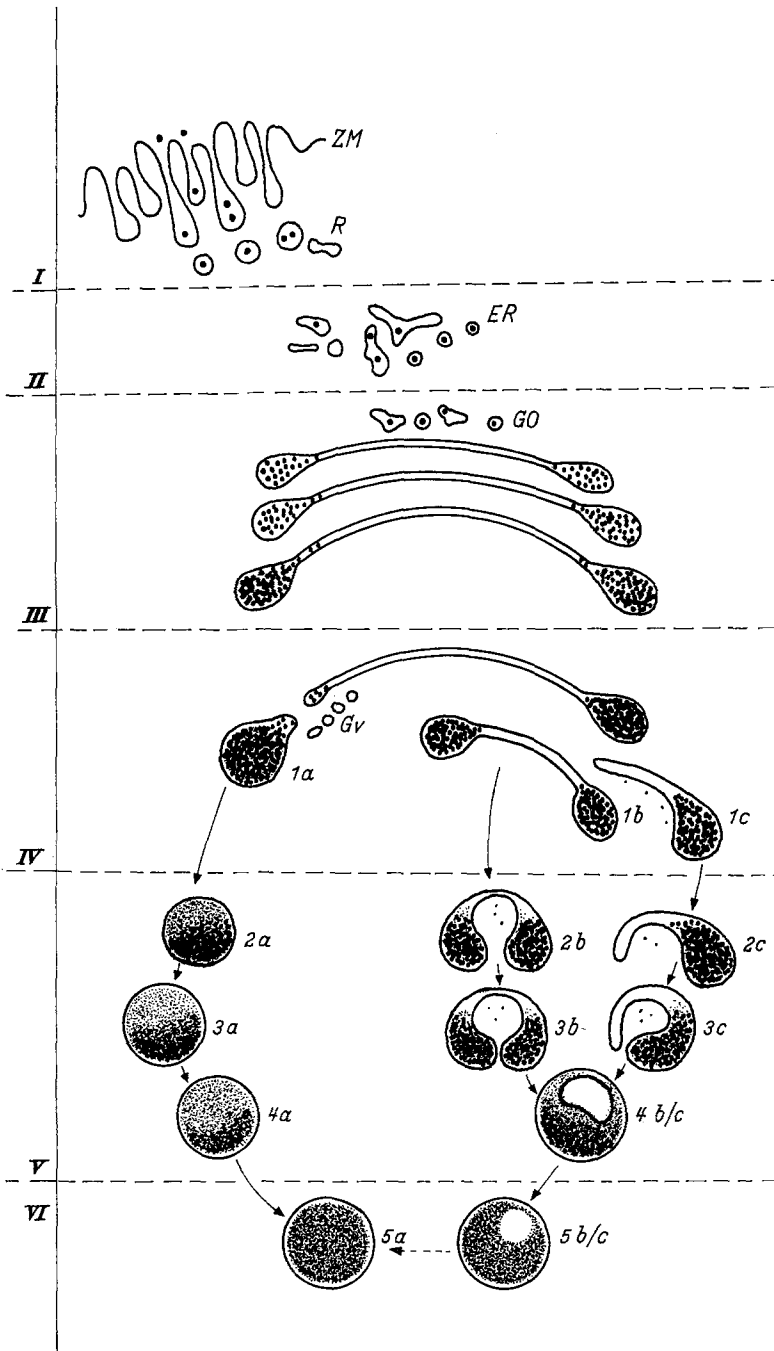


Abb. 8. Schematische Darstellung der Ausbildung von peribiliären dichten Körpern aus dem Golgi-Komplex: I. Aufnahme der dichten Granula an der Absorptionsoberfläche durch Pinocytose. — II. Transport der dichten Granula über das endoplasmatische Reticulum (ER). — III. Anreicherung und Verarbeitung im Golgi-Apparat (Go). Enge Beziehungen zwischen den Tubuli und Vesikeln des glatten endoplasmatischen Reticulums und Golgi-

embryonalen Zellen beobachten kann. Erst nach 8 Std, deutlicher jedoch nach 16—24 Std, erfolgt eine Desorganisation sowie ein weitgehender Abbau des rauen endoplasmatischen Reticulums als Ausdruck einer beginnenden prämitotischen Dedifferenzierung.

Eine Hypertrophie des *glatten endoplasmatischen Reticulums* wurde mehrmals — allerdings erst in späteren Versuchsstadien — beschrieben (BERNHARD und ROULLER, 1956; JORDAN, 1964; BARTÓK und VIRÁGH, 1965) und in Verbindung mit der Regeneration des rauen endoplasmatischen Reticulums gebracht. Obwohl auch wir Bilder sehen konnten, welche für einen Übergang glattwandiger Tubuli in die Ergastoplasmazysternen sprechen, glauben wir, daß die Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulums in den ersten Stunden nach der Teilhepatektomie weniger mit einer Neubildung des Ergastoplasmas als vielmehr mit einer Anpassung des Restparenchyms an die erhöhten Funktionsanforderungen verbunden ist; denn zu diesem Zeitpunkt hat die eigentliche Regeneration noch garnicht eingesetzt, und das rauhe endoplasmatische Reticulum weist noch keine nennenswerten Untergangserscheinungen auf.

3. *Microbodies*. Auf eine Vermehrung der Microbodies in der regenerierenden Leber haben ROULLER und BERNHARD (1956) hingewiesen. Nach neueren Untersuchungen (BAUDHUIN und BEAUFAY, 1963; BAUDHUIN, BEAUFAY und DE DUVE, 1965) stellen sie weder Promitochondrien (ROULLER und BERNHARD, 1956) noch Lysosomen (NOVIKOFF und ESSNER, 1960) sondern Organellen eigener Prägung dar, welche D-Aminooxydase, Katalase und Uratoxydase enthalten. Über ihre Funktion im Zellstoffwechsel besitzen wir vorerst nur ungenügende Kenntnisse. Ihre Vermehrung in der Restleber nach einer partiellen Hepatektomie dürfte — ähnlich wie die Vermehrung der Lysosomen — Ausdruck einer Anpassung an die gesteigerte funktionelle Belastung der Zelle sein. Die Morphogenese der Microbodies konnten wir mit unseren Versuchen nicht sicher klären. Da sie einen engen Kontakt zum glatten endoplasmatischen Reticulum besitzen, möchten wir in Übereinstimmung mit NOVIKOFF und SHIN (1963) ihre Entstehung aus diesen Cytoplasmastrukturen für wahrscheinlich halten.

V. Schlußfolgerungen

Überblicken wir die vorliegenden Befunde, so zeigt es sich, daß der größte Teil der beobachteten Veränderungen im Cytoplasma in den ersten 24 Std — also in der präregeneratorischen Phase — nach einer subtotalen Hepatektomie Folgen der erheblich erhöhten funktionellen Anforderung an die Restleber darstellt und im Sinn einer funktionellen Anpassung der Parenchymzelle an die gesteigerten Stoffwechselleistungen zu deuten ist. Dazu gehören die Vergrößerung der Absorptions- und Sekretionsoberfläche der Leberzelle, die Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Reticulums und des Golgi-Apparates sowie die vermehrte Ausbildung von peribiliären dichten Körpern (Lysosomen) aus Teilen des Golgi-

Säckchen an der „bildenden“ Fläche des Golgi-Komplexes. — IV. Abschnürungen von Golgi-Vacuolen (1a) und Golgi-Vesikeln (Gv) bzw. Abtrennung von ganzen Golgi-Säckchen (1b) oder größeren Fragmenten (1c). — V. Umwandlung der abgeschnürten Golgi-Vacuolen (2a, 3a, 4a) und der Golgi-Säckchen bzw. ihrer Fragmente (2b, 2c, 3b, 3c, 4b/c) in peribiliäre dichte Körper (VI, 5a, 5b/c). Fraglicher Übergang von 5b/c in 5a

Apparates. Auch das vermehrte Auftreten und die dichte Lagerung der elektronendichten osmiophilen Granula, welche die Beobachtung ihres Transportes durch das Cytoplasma sowie ihre weitere Verarbeitung ermöglichen, dürfte eine Folge ihres gesteigerten Angebotes an die Zellen der um zwei Drittel reduzierten Restleber sein.

Daneben zeigen sich aber auch Zeichen einer Zellschädigung, welche wohl größtenteils durch die extreme funktionelle Überbelastung bedingt sein dürfte, während wir den Schädigungen durch die Operation selbst nur ein geringes Gewicht beimessen. Zu den regressiven Veränderungen gehören das vermehrte Auftreten von autophagischen Vacuolen, der Glykogenschwund, die Zunahme von intracytoplasmatischen Fetttropfchen und die Erweiterung der Cysternen des rauen endoplasmatischen Reticulums.

Entsprechend den früheren lichtmikroskopischen und elektronenoptischen Untersuchungen haben wir in den ersten Stunden nach der Teilhepatektomie noch keine Hinweise für eine Regeneration gefunden.

Literatur

- ASHFORD, T. P., and K. R. PORTER: Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes. *J. Cell Biol.* **12**, 198—202 (1962).
- ASHWORTH, C. T., C. F. JOHNSON, and F. J. WRIGHTSMAN: Biochemical and morphologic correlations of hepatic protein synthesis in acute ethanol intoxication in rats. *Amer. J. Path.* **46**, 757—773 (1965).
- E. SANDERS, and N. ARNOLD: Hepatic lipids. Fine structural changes in liver cells after high-fat, high-cholesterol and choline-deficient diets in rats. *Arch. Path.* **72**, 625—636 (1961).
- F. WRIGHTSMAN, and B. COOPER: Cellular aspects of ethanol-induced fatty liver: a correlated ultrastructural and chemical study. *J. Lipid Res.* **6**, 258—268 (1965).
- BADE, E. G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fettaufnahme und die Fettverarbeitung in der regenerierenden Leber der Maus. *Virchows Arch. path. Anat.* **338**, 237—244 (1965).
- BARTÓK, I., u. S. VIRÁGH: Zur Entwicklung und Differenzierung des endoplasmatischen Reticulum in den Epithelzellen der regenerierenden Leber. *Z. Zellforsch.* **68**, 741—754 (1965).
- BAUDHUIN, P., et H. BEAUFAY: Examen au microscope électronique de fractions purifiées d'organites cytoplasmiques de foie du rat. *Arch. int. Physiol. Biochim.* **71**, 119—120 (1963).
- , and C. DE DUVE: Combined biochemical and morphological study of particulate fractions from rat liver. Analysis of preparations enriched in lysosomes or in particles containing urate oxydase, p-amino acid oxydase and catalase. *J. Cell Biol.* **26**, 219—243 (1965).
- BECKER, F., and B. P. LANE: Regeneration of the mammalian liver. I. Autophagocytosis during dedifferentiation of the liver cell in preparation for cell division. *Amer. J. Path.* **47**, 783—801 (1965).
- BERNHARD, W., and C. ROULLER: Close topographical relationship between mitochondria and ergastoplasma of liver cells in a definite phase of cellular activity. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, Suppl., 73—78 (1956).
- BRANDES, D., D. E. BUETOW, F. BERTINI, and D. B. MALKOFF: Role of lysosomes in cellular lytic processes. I. Effect of carbon starvation in *Euglena gracilis*. *Exp. Mol. Path.* **3**, 583—609 (1964).
- 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—755 (1965).
- BUCHER, N. L. R.: Regeneration of mammalian liver. *Rev. Int. Cytol.* **15**, 245—300 (1963).

- CAESAR, R.: Elektronenmikroskopischer Nachweis von Fettpartikeln im Disseschen' Raum. *Z. Zellforsch.* **54**, 793—802 (1961).
- CONFER, D. B., and R. J. STENGER: The evolution of lysosomes in hypoxic liver parenchyma as seen with the electron microscope. *Amer. J. Path.* **45**, 533—546 (1964).
- COSSEL, L.: Die menschliche Leber im Elektronenmikroskop. Jena: G. Fischer 1964.
- DAVIS, J. M. G.: Ultrastructure of rat liver cell cytoplasm during the process of regeneration after partial hepatectomy. *Acta radiol.* **58**, 17—32 (1962).
- DUVE, C. DE: The lysosome concept. In: *Lysosomes*, S. 1—31. Hrsg.: A. V. S. DE REUCK and M. P. CAMERON. London: Churchill 1963.
- ERICSSON, J. L. E., B. F. TRUMP, and J. WEIBEL: Electron microscopic studies of the proximal tubule of the rat kidney. II. Cytosegresomes and cytosomes: Their relationship to each other and to the lysosome concept. *Lab. Invest.* **14**, 1341—1365 (1965).
- ESSNER, E., and A. B. NOVIKOFF: Localization of acid phosphatase activity in hepatic lysosomes by means of electron microscopy. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 773—784 (1961).
- FISHER, E. R., and B. FISHER: Ultrastructural hepatic changes following partial hepatectomy and portacaval shunt in the rat. *Lab. Invest.* **12**, 929—942 (1963).
- HARKNESS, R. D.: Regeneration of liver. *Brit. med. Bull.* **13**, 87—93 (1957).
- HRUBAN, Z., B. SPARGO, H. SWIFT, R. W. WISSLER, and R. G. KLEINFELD: Focal cytoplasmic degradation. *Amer. J. Path.* **42**, 657—683 (1963).
- JÉZÉQUEL, A.-M.: Les effets de l'intoxication aigue au phosphore sur le foie de rat. Étude au microscope électronique. *Ann. Anat. path.* **3**, 512—537 (1958).
- JORDAN, S. W.: Electron microscopy of hepatic regeneration. *Exp. Mol. Path.* **3**, 183—200 (1964).
- NOVIKOFF, A. B.: Lysosomes in the physiology and pathology of cells: Contributions of staining methods. In: *Lysosomes*, S. 36—77. Hrsg.: A. V. S. DE REUCK and M. P. CAMERON. London: Churchill 1963.
- , and E. ESSNER: The liver cell. Some new approaches to its study. *Amer. J. Med.* **29**, 102—131 (1960).
- — Pathological changes in cytoplasmic organelles. *Fed. Proc.* **21**, 1130—1142 (1962).
- — Cytolysosomes and mitochondrial degeneration. *J. Cell Biol.* **15**, 140—146 (1962).
- —, and N. QUINTANA: Golgi apparatus and lysosomes. *Fed. Proc.* **23**, 1010—1022 (1964).
- , and W. Y. SHIN: The endoplasmic reticulum in the Golgi zone and its relations to microbodies, Golgi apparatus and autophagic vacuoles in the rat liver cells. *J. Microscopie* **3**, 187—206 (1964).
- PALAY, S. L., and L. J. KARLIN: An electron microscopic study of the intestinal villus. II. The pathway of fat absorption. *J. biophys. biochem. Cytol.* **5**, 373—384 (1959).
- ROUILLER, C., and W. BERNHARD: "Microbodies" and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, Suppl., 355—359 (1956).
- THOENES, W., u. P. BANNASCH: Elektronen- und lichtmikroskopische Untersuchungen am Cytoplasma der Leberzellen nach akuter und chronischer Thioacetamid-Vergiftung. *Virchows Arch. path. Anat.* **335**, 556—583 (1962).
- TROTTER, N. L.: A fine structure study of lipid in mouse liver regenerating after partial hepatectomy. *J. Cell Biol.* **21**, 233—244 (1964).
- Electron-opaque, lipid-containing bodies in mouse liver at early intervals after partial hepatectomy and sham operation. *J. Cell Biol.* **25**, 41—52 (1965).
- WEINBRENN, K., and A. TAGHIZADEH: The mitotic response after subtotal hepatectomy in the rat. *Brit. J. exp. Path.* **46**, 413—417 (1965).
- WESSEL, W., P. GEDIGK u. O. GIERSEBERG: Elektronenmikroskopische und morphometrische Untersuchungen an Kaninchen-Lebern nach intravenöser Injektion organisch gebundenen Kupfers. *Virchows Arch. path. Anat.* **340**, 206—230 (1966).

Dr. I. BARTÓK
Pathologisches Institut der
Medizinischen Universität
Szeged (Ungarn), Kossuth Lajos sugárút 40

Prof. Dr. P. GEDIGK
Dr. V. TOTÓVIĆ
Pathologisches Institut der Universität
3550 Marburg a. d. Lahn, Robert-Koch-Str. 5