

Entwicklung und Umwandlung lysosomaler Funktionsformen unter besonderer Berücksichtigung des glatten endoplasmatischen Reticulum

Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Modell des proximalen
Tubulus nach Phenacetinbelastung

J. TORHORST, L. RICHTER* und H.P. ROHR

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

Eingegangen am 17. Juli 1967

*Development and Transformation of Functional Forms of Lysosomes
with Special Regard to the Smooth Endoplasmic Reticulum*

Electron Microscopic Studies of the Proximal Renal Tubule after Phenacetin Loading

Summary. 24 female rats of the Wistar strain were fed with Altromin-R containing 2.5% phenacetin. Animals of the first group were killed after one day up to 8 weeks of phenacetin-feeding. The maximal phenacetin-uptake was 61 g/kg body weight. A second group was fed for 8 weeks with a phenacetin-diet and thereafter with the standard diet (Altromin-R.). These animals were killed after one to 8 weeks of standard diet feeding. The smooth endoplasmic reticulum increased focally in the proximal tubular cells of rats fed phenacetin briefly. At the end of the first week homogenous pigment bodies could be seen which changed into nonhomogenous pigment; they fused with cytolysosomes in later experimental stages. At the same time myelin figures developed. After stopping the phenacetin-diet large condensed bodies of pigments and cytolysosomes were formed that were eliminated into the lumen of the tubules. The importance of the smooth endoplasmic reticulum under physiological and pathological conditions is discussed. The role of the smooth endoplasmic reticulum in biosynthesis of membranes and in providing lysosomal enzymes, adaptations of the tubular cell to injure, is reviewed.

Zusammenfassung. 24 weibliche, 240—340 g schwere Wistarratten erhalten während einer achtwöchigen Versuchsperiode phenacetinhaltiges Futter (2,5% ig) bis zu einer Gesamtmenge von maximal 61 g/kg Körpergewicht. Eine Gruppe der Versuchstiere wird in Intervallen von einem Tag und bis zu 8 Wochen während der Phenacetinfütterung getötet. Eine weitere Gruppe wird nach Umstellung auf Normalfutter in wöchentlichen Intervallen untersucht. Zu Versuchsbeginn lässt sich in den Zellen des proximalen Tubulus ein vermehrtes focales Auftreten von glattem endoplasmatischem Reticulum beobachten. Wenig später erscheinende homogene Pigmentkörper wandeln sich zu inhomogenen Pigmentkörpern um und verschmelzen mit Cytolysosomen. Dabei kann oft eine Entstehung von Myelinfiguren beobachtet werden. Nach Absetzen des Phenacetin entstehen Kondensationsformen, die ins Tubulusslumen ausgestoßen werden. Die Bedeutung des glatten endoplasmatischen Reticulum unter physiologischen und pathologischen Bedingungen wird diskutiert. Die Möglichkeit einer Mitbeteiligung des glatten endoplasmatischen Reticulum bei der Membranbiosynthese sowie bei der Bereitstellung von lysosomalen Fermenten im Sinne einer aktiven Anpassung der geschädigten Tubuluszellen wird in Betracht gezogen.

* Wesentliche Teile der vorliegenden Arbeit werden der Medizinischen Fakultät der Universität Freiburg von Fräulein L. RICHTER als Doktorarbeit vorgelegt.

Untersuchungen an der Rattenniere nach Phenacetinbelastung haben als wesentlichen Befund eine ausgeprägte Pigmentbildung bzw. Pigmentspeicherung infolge der Hämolyse ergeben (TORHORST u. Mitarb. 1967). Es handelt sich bei diesen sehr polymorphen Zelleinschlüssen sehr wahrscheinlich um lysosomale Funktionsformen. Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die Entstehung und Umwandlung dieser lysosomalen Funktionsformen weiterhin zu klären. Der Schwerpunkt der Beobachtungen richtet sich dabei auf die Frühphasen der Entwicklung, wobei regelmäßig eine fokale Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulum beobachtet werden kann. Deshalb soll im folgenden die funktionelle Bedeutung der Vermehrung dieses Zellkompartimentes einer vergleichenden Diskussion unterzogen werden.

Versuchsanordnung und Methode

24 weibliche, 3—5 Monate alte Ratten (Stamm 46 BR Wistar II) mit einem Ausgangsgewicht zwischen 240 und 340 g erhalten ad libitum Altromin-R mit 2,5% Phenacetin und Süßstoff, Fenchel und Anis als Geschmackskorrigentien sowie Wasser ad libitum. Das Phenacetin ist aus p-Aminophenol hergestellt und enthält als Verunreinigung bis zu 5% Acetanilid. Die Ratten werden nach 1, 2, 4 und 8 Tagen sowie nach 2—8 Wochen getötet. Acht Tiere erhalten nach achtwöchiger Phenacetinfütterung wieder Normalfutter ad libitum und werden nach 1—8 Wochen getötet. Die tägliche Futtermenge beträgt 4—15 g phenacetinhaltiges Futter (Kontrollratten fressen 20—30 g Normalfutter täglich), entsprechend einer Phenacetinmenge von 0,5—1,1 g/kg Körpergewicht. Das Gewicht der Tiere nach Phenacetingabe liegt zwischen 30 und 120 g niedriger als das Ausgangsgewicht. Die Tiere, die nach Phenacetinfütterung wieder Normalfutter erhalten, erreichen nach 14 Tagen das Ausgangsgewicht.

Nach Tötung der Tiere werden Niere, Leber und Milz für die lichtmikroskopische Untersuchung in Bouinscher Lösung fixiert, in Paraffin eingebettet und folgenden Färbungen unterzogen: HE, PAS, Turnbull, Berliner-Blau und Hämoglobinfärbung nach ERICSSON (1965).

Elektronenmikroskopische Verarbeitung: 1 mm³ große, osmiumfixierte Würfel werden in aufsteigender Alkoholreihe und Propylenoxyd entwässert und in Epon eingebettet. Zur Lokalisation des proximalen Tubulus werden semidünne Schnitte angefertigt. Die entsprechenden Blöcke werden ultradünn geschnitten, auf Formvar-befilmte Kupfernetze aufgezogen und mit Bleicitrat kontrastiert. Elektronenmikroskopische Untersuchung mit dem Zeiss EM 9.

Ergebnisse

Lichtmikroskopie. Die Glomerula erscheinen unverändert und sind mäßig durchblutet. Die Tubuli lassen nur teilweise eine Lichtung erkennen. Zylinder lassen sich nicht nachweisen. Das Interstitium ist nicht verbreitert. An der Mark-Rindengrenze können kleine, herdförmige, lymphocytäre Infiltrate beobachtet werden. Die Gefäße sind unverändert. Papillennekrosen sind nicht zu finden.

Im gewundenen Hauptstück kann vom zweiten Tag an zunehmend fein- und grobscholliges Pigment mit brauner Eigenfarbe nachgewiesen werden, welches sich zunächst nur zum geringen Teil eisenpositiv färbt. Von der vierten Woche an ist die Vermehrung des eisenpositiven Pigments augenfällig. Eisenpositives und eisennegatives Pigment sind PAS-negativ. Ein großer Teil des Pigments ist zu Beginn des Versuches wie Hämoglobin anfärbar.

Auch 8 Wochen nach Absetzen der Phenacetinfütterung ist im gewundenen Hauptstück reichlich eisenpositives und eisennegatives Pigment nachweisbar. Dabei scheint die grobschollige Form zu überwiegen, die auch im Tubuluslumen nachgewiesen werden kann. Zu allen Versuchszeiten sind die gestreckten Hauptstücke, insbesondere deren Bürstensaum unverändert.

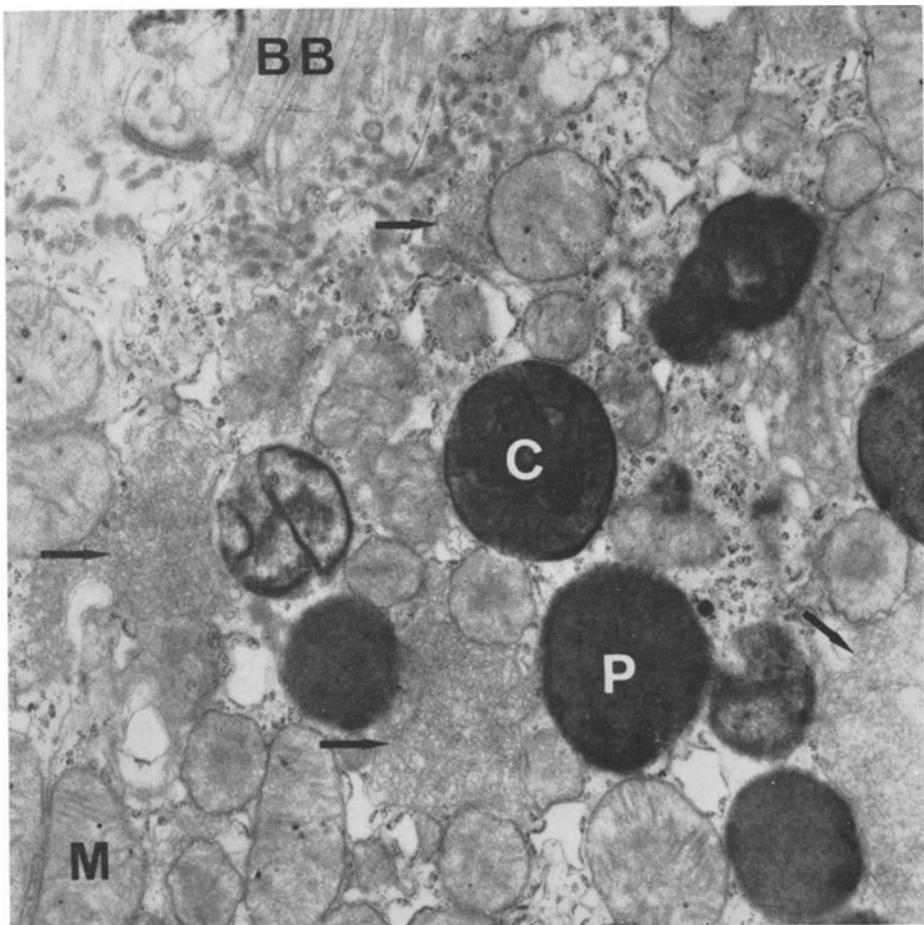


Abb. 1. Rattenniere. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle nach 6 Tagen 2,5 % iger Phenacetindiät. Herde von glattem endoplasmatischem Reticulum (Pfeile). *P* homogen nicht granulierter Pigmentkörper, *C* Cytolysosom, *BB* Bürstensaum, *M* Mitochondrium. 12500:1

Elektronenmikroskopie. 1—8 Tage nach Phenacetinfütterung: Bereits am ersten Tag fällt eine herdförmige Vermehrung des *glatten endoplasmatischen Reticulum* auf (Abb. 1). Die Zonen des glatten endoplasmatischen Reticulum besitzen einen labyrinthähnlichen Aufbau und liegen oft in der Nähe von Autophagievacuolen bzw. Cytolysosomen. Im Laufe der ersten Woche nimmt die Zahl der Felder von glattem endoplasmatischem Reticulum stark zu. Am Ende der ersten Woche treten *homogene, nicht granulierte Pigmentkörper* (Phagosomen bzw. Phagolysosomen) hinzu (Abb. 1). Die Zahl der hauptsächlich lamellär aufgebauten Golgi-felder ist mäßig vermehrt. Das rauhe endoplasmatische Reticulum, der Kern und das Grundcytoplasma sind unverändert. Die *Autophagievacuolen* bzw. *Cytolysosomen* enthalten degenerierte Mitochondrien, cytoplasmatische Membranen und stellenweise mehr oder minder granulierte, elektronendichte Areale. Auto-

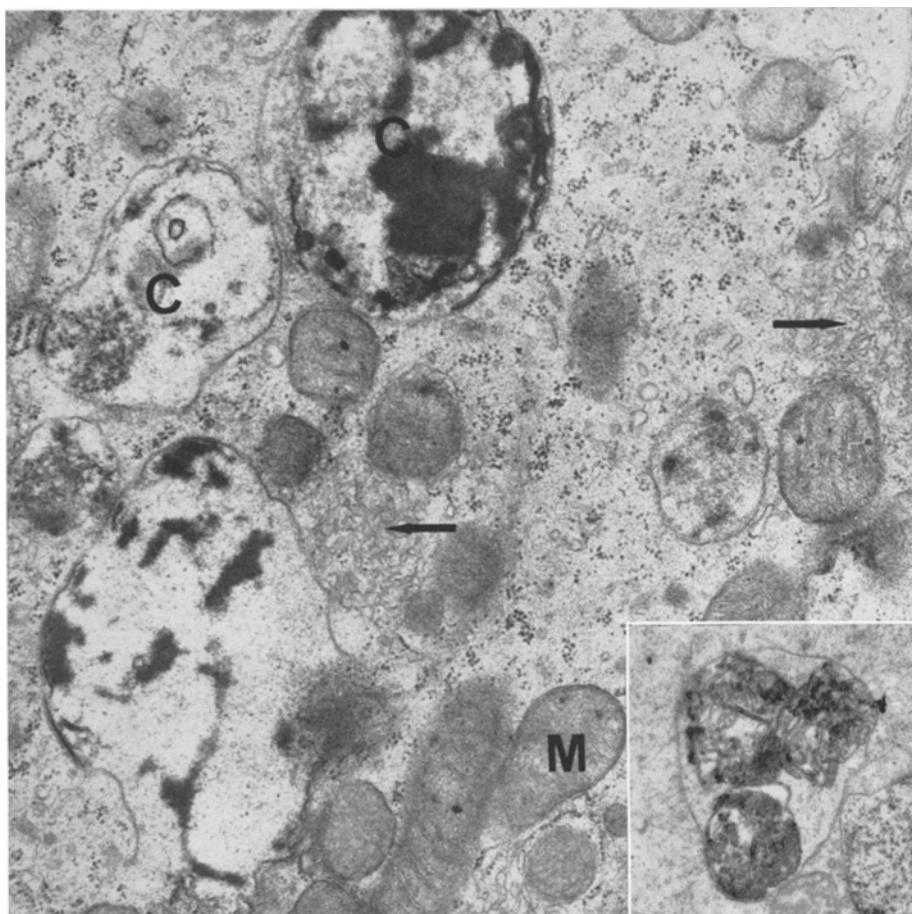


Abb. 2. Rattenniere. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle nach 2 Wochen 2,5 % iger Phenacetindiät. Herde von glattem endoplasmatischem Reticulum (Pfeile). C Cytolysosomen, M Mitochondrium. 9300:1. Inset: Cytolysosom, welches degenerierte Mitochondrien einschließt. 9300:1

phagievacuolen und Phagosomen werden durch die Aufnahme von hydrolytischen Enzymen zu Cytolysosomen bzw. Phagolysosomen umgewandelt (Abb. 2). Die Veränderungen sind ausgesprochen herdförmig, ihr Ausmaß schwankt von Tubuluszelle zu Tubuluszelle.

Erste bis achte Woche nach Phenacetinfütterung: Es ist eine kontinuierliche Zunahme an homogenen, granulierten Pigmentkörpern zu beobachten, deren Inhalt bei hoher Auflösung die typische Ferritinstruktur aufweist. Mit zunehmender Versuchszeit werden die Pigmentkörper immer inhomogener, extrem elektronendichte Bezirke wechseln mit ganz hellen ab. Innerhalb dieser wechselnd dichten Phagolysosomen beobachtet man wesentlich häufiger als in der ersten Versuchswocche Myelinfiguren, die auch frei im Cytoplasma auftreten können (Abb. 3 u. 4). Ihre Zahl nimmt bis zum Ende der achten Woche zu. Das bunte

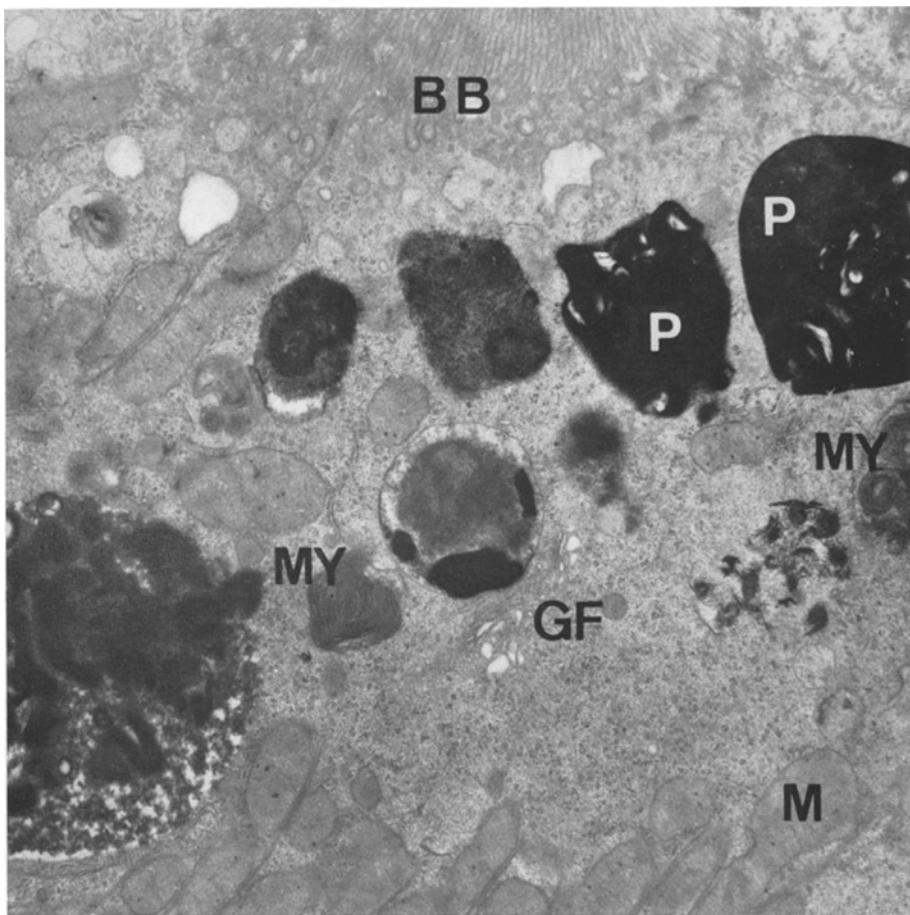


Abb. 3. Rattenniere. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle nach 8 Wochen 2,5 % iger Phenacetindiät. *P* Inhomogene, ferritinhaltige Pigmentkörper mit Myelinfiguren, *MY* Myelinfiguren im Grundcytoplasma, *BB* Bürstensaum, *M* Mitochondrium, *GF* Golgifeld. 10500:1

Nebeneinander der verschiedenenartigen lysosomalen Funktionsformen ist schon in den frühen Versuchszeitpunkten vorhanden. Nach der ersten Woche werden mehr und mehr inhomogene Pigmentkörper und Myelinfiguren beobachtet. Cytolytosomen sind zu jeder Versuchszeit etwa in gleicher Zahl vorhanden, jedoch im Vergleich zu Kontrollratten vermehrt. Eine Zusammenlagerung dieser lysosomalen Körper zu Gruppen und größeren Konglomeraten ist typisch für die letzten beiden Wochen.

Erste bis achte Woche nach Absetzen der Phenacetinfütterung: Die Tubuluszellen behalten sehr lange das in den letzten Wochen beobachtete Verteilungsmuster der Veränderungen bei. Es lässt sich lediglich eine Vermehrung der Myelinfiguren beobachten. Die Tubuluszellen sind ausgefüllt mit großen, polymorphen Pigmentkörpern, riesigen Cytolytosomen und großen Arealen von Myelinfiguren. Die Konglomerate (residual bodies) werden später in der Nähe der Bürstensäume

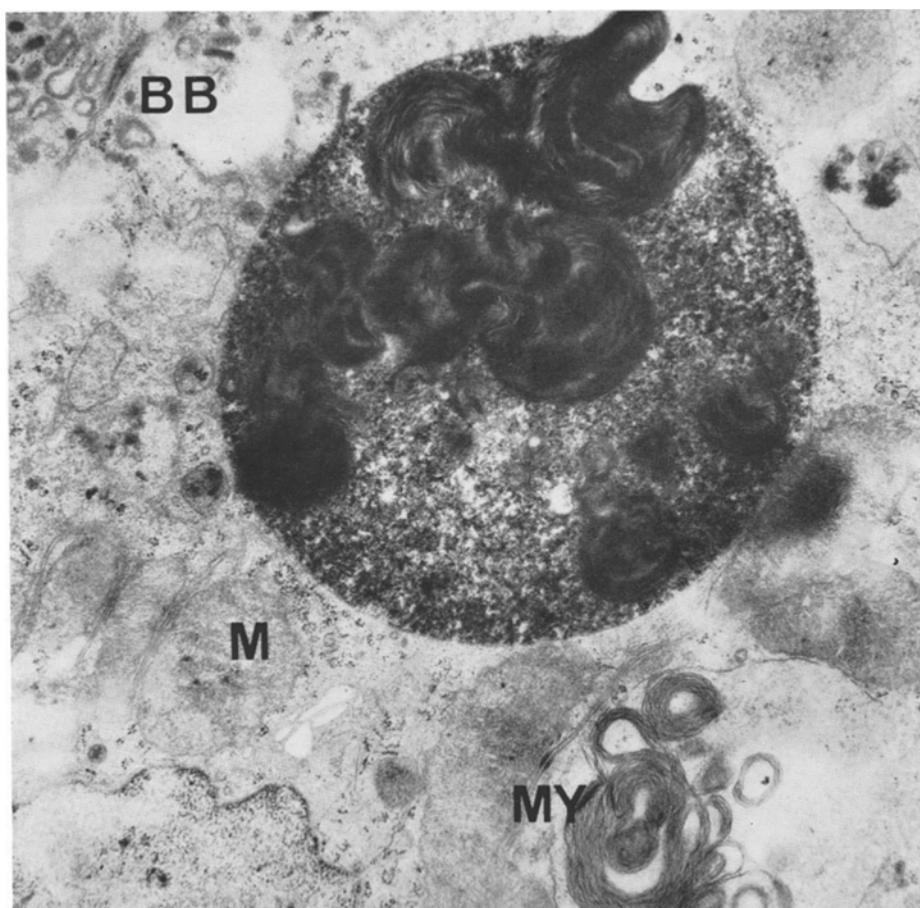


Abb. 4. Rattenniere. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle nach 8 Wochen 2,5% iger Phenacetindiät. Inhomogener, ferritinhaltiger Pigmentkörper mit Myelinfiguren, *MY* Myelinfiguren im Grundcytoplasma. *M* Mitochondrium, *BB* Bürstensaum. 18200:1

und schließlich im Tubuluslumen beobachtet (Abb. 5). Daneben werden Zellen, die durch Anhäufung von Phagolysosomen und Cytolysosomen geschädigt sind, in das Tubuluslumen abgestoßen.

Diskussion

Auffallend ist bei Versuchsbeginn das vermehrte fokale Auftreten von glattem endoplasmatischem Reticulum in den Zellen des proximalen Tubulus. Bei den Kontrollratten hingegen können nur vereinzelt kleine Ansammlungen von glattem endoplasmatischem Reticulum beobachtet werden. Die in den Frühphasen entstandenen homogenen Pigmentkörper wandeln sich in zunehmendem Maße in inhomogene Pigmentkörper um. Die Autophagievacuolen bzw. Cytolysosomen sind gegenüber der Norm deutlich vermehrt. Es entstehen mannigfache Mischformen mit späterer Umwandlung zu Myelinfiguren. Nach Absetzen des Phenace-

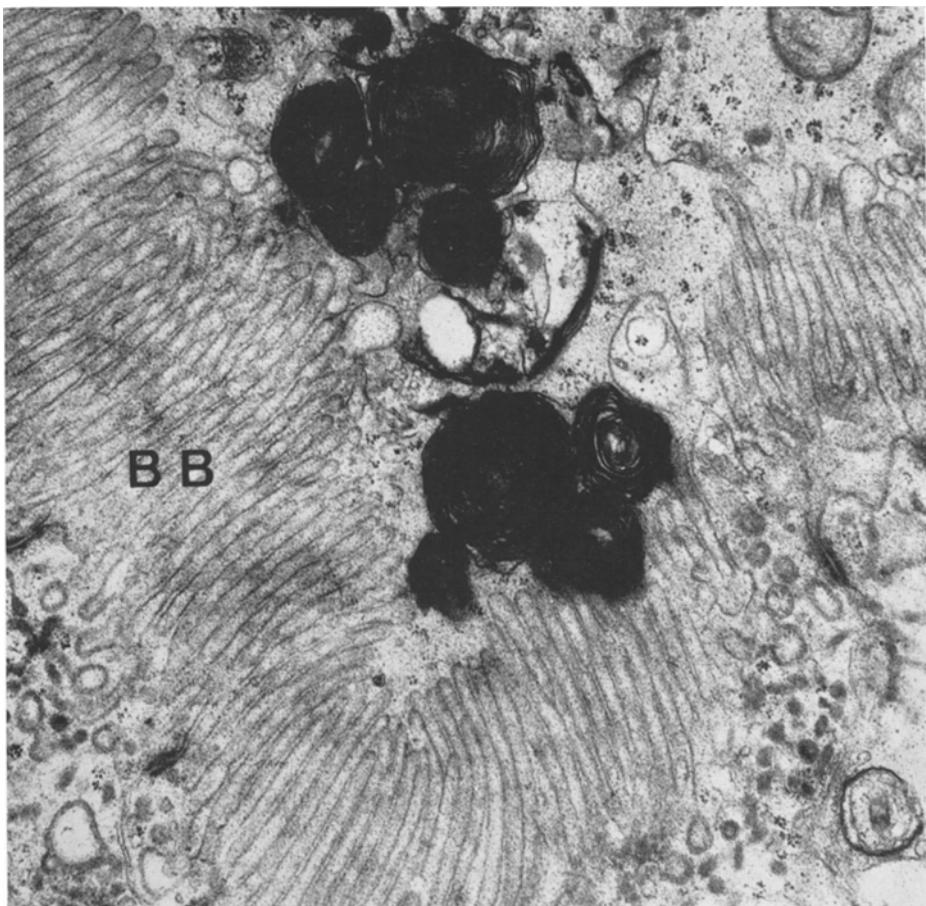


Abb. 5. Rattenniere. Ausschnitt einer proximalen Tubulusepithelzelle 1 Woche nach Absetzen der Phenacetindiät. Myelinfiguren und Cytolysosomen im Tubuluslumen. BB Bürstensaum.
18900:1

tins lagern sich Phagolysosomen und Cytolysosomen zu großen Konglomeraten zusammen, die zum Teil in das Tubuluslumen abgestoßen werden.

Für die Entstehung der beschriebenen Veränderungen ist wahrscheinlich neben der phenacetinbedingten Hämolyse die Acidose verantwortlich zu machen. Die Acidose dürfte weitgehend auf die herabgesetzte Nahrungsaufnahme zurückzuführen sein (TORHORST u. Mitarb., 1967). Eine direkte Einwirkung von Phenacetin oder seinen Abbauprodukten ist denkbar, jedoch nicht erwiesen.

Das elektronenoptische Bild der vorliegenden Versuche lässt folgende Zusammenhänge und Umwandlungen der Pigmentkörper vermuten: Das bei der Hämolyse frei werdende Hämoglobin wird glomerulär filtriert, von der proximalen Tubuluszelle resorbiert und zunächst in homogenen Pigmentkörpern, den Phagosomen gespeichert (NEUSTEIN u. MAUNSBACH, 1966).

Durch Einsetzen der lysosomalen Verdauung erscheinen diese Pigmentkörper in zunehmendem Maße inhomogen und granuliert. Dabei wird das Hämoglobin zu Ferritin und schließlich zu Hämosiderin umgewandelt. Der Abbau der Trägereiweiße von Hämoglobin und Ferritin sowie der mitaufgenommenen Plasmalipoide führt zu einem Überschuß an Phospholipiden. Aus diesen entstehen wahrscheinlich die zahlreichen Myelinfiguren, die zur Hauptsache in den reifen Phagolysosomen beobachtet werden können (MILLER u. PALADE, 1964). Als Ausdruck einer Anpassung an die oben aufgeführten Faktoren (Hämolyse, Acidose, Hunger, u.U. Phenacetin und seine Abbauprodukte) oder als Ausdruck einer Schädigung durch diese Faktoren müssen die zahlreichen Cytolysosomen aufgefaßt werden. Die beiden sekundären lysosomalen Erscheinungsformen (ROHR, 1966; DE DUVE u. WATTIAUX, 1966), Cyto- und Phagolysosomen, scheinen zu verschmelzen. Reine Formen können in den späteren Versuchszeitpunkten nicht mehr nachgewiesen werden. Die Tendenz der Zelle, diese konfluierenden Mischformen zu sequestrieren, ist offensichtlich. Nach Absetzen des Phenacetins können reichlich „residual bodies“ im Tubuluslumen gefunden werden.

In der Frühphase der vorliegenden Versuchsreihe erscheint uns das fokale Auftreten von labyrinthähnlichem, glattem endoplasmatischem Reticulum von besonderer Bedeutung zu sein. Schon vor dem Erscheinen der Pigmentkörper werden viele herdförmige Ansammlungen von glattem endoplasmatischem Reticulum gefunden. Ähnliche Veränderungen finden sich an der Niere nach einseitiger Nephrektomie (ANDERSON u. Mitarb., 1966) sowie nach Kombination der Nephrektomie mit nachfolgender Röntgenganzkörperbestrahlung (LEAK u. ROSEN, 1966), bei der Dioxannephrose (DAVID, 1964) sowie besonders ausgeprägt nach subtoxischen Salyrgandosen und bereits wenige Minuten nach Injektion von Malonsäure (ROHR u. Mitarb., 1967). In der Leber tritt das glatte endoplasmatische Reticulum vermehrt auf nach Phenobarbital (REMMER u. MERKER, 1963; JONES u. FAWCETT, 1966; ORRENTIUS u. ERICSSON, 1966), in der Frühphase nach Einwirkung von Tetrachlorkohlenstoff (REYNOLDS, 1965) sowie nach Gabe von carcinogenen Substanzen (MIKATA u. LUSE, 1964).

Grundsätzlich wird man bei den beobachteten Veränderungen zwei Entstehungsmechanismen diskutieren müssen: nämlich eine Bildung dieser labyrinthähnlichen Strukturen im Sinne eines degenerativen Zellprozesses (REYNOLDS, 1965), sowie eine Entstehung der tubulär angeordneten Membranen als Ausdruck einer aktiven, adaptiven Zelleistung.

Eine Membranentstehung bei degenerativen Zellveränderungen wäre z.B. durch eine Desorganisation der cytoplasmatischen Membranen oder durch eine Ablösung von Ribosomen denkbar (THOENES u. BANNASCH, 1962; STEINER u. BAGLIO, 1963). Andererseits ist es erwiesen, daß Membransysteme unter physiologischen und pathologischen Bedingungen aus dem Grundcytoplasma hervorgehen können (WOHLFARTH-BOTTERMANN, 1960, 1963). Die Annahme einer Desorganisation darf in den vorliegenden Experimenten aller Wahrscheinlichkeit nach ausgeschlossen werden, zumal in den Tubuluszellen verhältnismäßig wenig rauhes endoplasmatisches Reticulum und Golgfelder vorhanden sind. Entmischungsvorgänge lassen sich jedoch nicht sicher ausschließen. Sie könnten u.U. auch im Sinne einer adaptiven Umwandlung der Tubuluszelle aufzufassen sein. Im Gegen-

satz dazu kann für die frei im Grundcytoplasma auftretenden Myelinfiguren die Entstehung durch degenerative Entmischungsvorgänge angenommen werden. Tatsächlich werden in autolytischen Zellen gleichfalls freie Myelinfiguren beobachtet (LATTA u. Mitarb., 1965; TRUMP u. Mitarb., 1965). Eine Umwandlung des glatten endoplasmatischen Reticulum in Myelinfiguren können wir jedoch nicht ausschließen. Über die Funktionen des glatten endoplasmatischen Reticulum ist wenig bekannt. Beim gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse muß dieses Zellkompartiment in erster Linie als deskriptiver Oberbegriff aufgefaßt werden. Mit Sicherheit stellt es keine in sich geschlossene Funktionseinheit dar wie etwa die Mitochondrien. Als gesichert darf bisher lediglich eine Mitbeteiligung des glatten endoplasmatischen Reticulum bei der Steroidsynthese gelten; außerdem spielt es eine wesentliche Rolle bei der Reizleitung im Muskel, bei der Salzbildung in den Salzdrüsen der Seemöve sowie beim Fetttransport in den Darmepithelien (FAWCETT, 1966). Unter pathologischen Bedingungen soll diesem Zellkompartiment eine entscheidende Bedeutung bei Entgiftungsvorgängen zukommen (CHIESARA u. Mitarb., 1967). Noch nicht restlos geklärt ist die funktionelle Beziehung des glatten endoplasmatischen Reticulum zum Glykogenstoffwechsel: Sowohl eine Mitbeteiligung beim Glykogenaufbau als auch beim Glykogenabbau wird diskutiert (COIMBRA u. LEBLOND, 1966). In jüngster Zeit wird dieses Zellkompartiment für eine Beteiligung bei der Biosynthese von Membranen verantwortlich gemacht (DALLNER u. Mitarb., 1966). Dabei soll die Eiweißkomponente der neu auftretenden Membranen im Ergastoplasma entstehen und mit den dort vorliegenden Phospholipiden gekoppelt werden.

Unter Berücksichtigung dieser Resultate möchten wir unsere eigenen Befunde im folgenden Sinne deuten:

Das vermehrte herdförmige Auftreten von glattem endoplasmatischem Reticulum fassen wir als eine aktive Leistung der Zelle auf. Im gleichen Sinne deuten wir auch die analogen Veränderungen der Tubuluszelle nach Injektion von Salyrgan, wobei gleichzeitig eine enorme Vergrößerung der Bürstensäume nachzuweisen ist. Dieser Befund legt die Annahme nahe, daß durch das glatte endoplasmatische Reticulum Bürstensaummembranen bereitgestellt werden.

Das glatte endoplasmatische Reticulum ist auffallender Weise immer dann vermehrt, wenn in der Niere mehr oder minder ausgedehnte Umbauvorgänge einsetzen. Dies trifft sowohl für die Tubuluszelle nach Salyrgan, nach Malonsäure, nach einseitiger Nephrektomie und Bestrahlung (LEAK u. ROSEN, 1966) als auch für die vorliegenden Untersuchungen zu. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang eine Bereitstellung von Membranen zur Abgrenzung geschädigter Zellbezirke (Autophagievakuolen, Cytolysosomen), sowie Phagolysosomen. In dieses Phagolysosomen wird das von der vorgeschädigten Tubuluszelle aufgenommene Hämoglobin zu Ferritin und Hämosiderin umgewandelt. Möglicherweise können gleichzeitig mit der Bereitstellung von Membranen lysosomale Fermente durch Vermittlung des glatten endoplasmatischen Reticulum eingeschleust werden. Dabei sind Wechselbeziehungen zu den Golgilamellen, die gleichfalls in vermehrtem Ausmaß beobachtet werden können, denkbar, da diese Lamellen als Stapelort von Membranen und saurer Phosphatase aufgefaßt werden (REVEL u. HAY, 1965; MILLER u. PALADE, 1964). Ziel weiterer Untersuchungen wird es

unter anderem sein, eine Mitbeteiligung des glatten endoplasmatischen Reticulum bei Synthesevorgängen mit Hilfe von geeigneten radioaktiv markierten Bausteinen zu erfassen.

Literatur

- ANDERSON, W.A., A. WEISSMANN, and R.A. ELLIS: A comparative study of microtubules in some vertebrate and invertebrate cells. *Z. Zellforsch.* **71**, 1—13 (1966).
- CHIESARA, E., F. CLEMENTI, F. CONTI, and J. MELDOLESI: The induction of drug-metabolizing enzymes in rat liver during growth and regeneration. A biochemical and ultrastructural study. *Lab. Invest.* **16**, 254—267 (1967).
- COIMBRA, A., and C.P. LEBLOND: Sites of glycogen synthesis in rat liver cells as shown by electron microscope radioautography after administration of glucose-H³. *J. Cell Biol.* **30**, 151—175 (1966).
- DALLNER, G., P. SIEKEVITZ, and G.E. PALADE: Biogenesis of endoplasmic reticulum membranes. I. Structural and chemical differentiation in developing rat hepatocyte. *J. Cell Biol.* **30**, 73—96 (1966).
- — — Biogenesis of endoplasmic reticulum membranes. II. Synthesis of constitutive microsomal enzymes in developing rat hepatocyte. *J. Cell Biol.* **30**, 97—117 (1966).
- DAVID, H.: Elektronenmikroskopische Befunde bei der dioxanbedingten Nephrose der Ratten-niere. *Beitr. path. Anat.* **130**, 187—212 (1964).
- DUVE, CH. DE, and R. WATTIAUX: Functions of lysosomes. *Ann. Rev. Physiol.* **28**, 435—492 (1966).
- FAWCETT, D.W.: The cell. Its organelles and inclusions. Philadelphia and London: W. B. Saunders Co 1966.
- JONES, A.L., and D.W. FAWCETT: Hypertrophy of the agranular endoplasmic reticulum in hamster liver induced by phenobarbital (with a review on the functions of this organelle in liver). *J. Histochem. Cytochem.* **14**, 215—232 (1966).
- LATTA, H., L. OSVALDO, J.D. JACKSON, and M.L. COOK: Changes in renal cortical tubules during autolysis. Electron microscopic observations. *Lab. Invest.* **14**, 635—657 (1965).
- LEAK, L.V., and V.J. ROSEN: Early ultrastructural alterations in proximal tubular cells after unilateral nephrectomy an X-irradiation. *J. Ultrastruct. Res.* **15**, 326—348 (1966).
- MIKATA, A., and S.A. LUSE: Ultrastructural changes in the rat liver produced by N-2-fluor-enyldiacetamide. *Amer. J. Path.* **44**, 455—479 (1964).
- MILLER, F., and G.E. PALADE: Lytic activities in renal protein absorption droplets. *J. Cell Biol.* **23**, 519—552 (1964).
- NEUSTEIN, H.B., and A.B. MAUNSBACH: Hemoglobin absorption by proximal tubule cells of the rabbit kidney. A study of electron microscopic autoradiography. *J. Ultrastruct. Res.* **16**, 141—157 (1966).
- ORRENIUS, S., and J.L.E. ERICSSON: Enzyme-membrane relationship in phenobarbital induction of synthesis of drug-metabolizing enzyme systems and proliferation of endoplasmic membranes. *J. Cell Biol.* **28**, 181—198 (1966).
- REMMER, H., u. H.J. MERKER: Enzyminduktion und Vermehrung von endoplasmatischem Retikulum in der Leberzelle während der Behandlung mit Phenobarbital (Luminal). *Klin. Wschr.* **41**, 276—283 (1963).
- REVEL, J.P., and E.D. HAY: An autoradiographic and electron microscopic study of collagen synthesis in differentiating cartilage. *Z. Zellforsch.* **61**, 110—144 (1963).
- REYNOLDS, E.S.: Liver parenchymal cell injury. III. The nature of calcium-associated electron-opaque masses in rat liver mitochondria following poisoning with carbon tetrachloride. *J. Cell Biol.* **25**, 53—75 (1965).
- ROHR, H.P.: Die funktionelle Bedeutung der Lysosomen unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. *Schweiz. med. Wschr.* **96**, 1712—1716 (1966).
- STEINER, J.W., and C.M. BAGLIO: Electron microscopy of the cytoplasm of parenchymal liver cells in α -Naphthyl-isothiocyanate-induced cirrhosis. *Lab. Invest.* **12**, 765—790 (1963).
- THOENES, W., u. P. BANNASCH: Elektronen- und lichtmikroskopische Untersuchungen am Cytoplasma der Leberzellen nach akuter und chronischer Thioacemid-Vergiftung. *Virchows Arch. path. Anat.* **335**, 556—583 (1962).

- TORHORST, J., O. v. DEIMLING, L. RICHTER u. H.P. ROHR: Ultrastrukturelle und histo-chemische Untersuchungen an der Rattenniere bei chronischer Mangelernährung. Virchows Arch. path. Anat. (im Druck).
- H.P. ROHR, H.U. ZOLLINGER, A. STUDER u. J.P. TRANZER: Ultrastrukturelle Veränderungen der proximalen Tubuluszelle von Rattenieren nach Phenacetinüberbelastung. Virchows Arch. path. Anat. **342**, 70—84 (1967).
- TRUMP, B.F., P.J. GOLDBLATT, and R.E. STOWELL: 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 (1965).
- WOHLFARTH-BOTTERMANN, K. E.: Die elektronenmikroskopische Untersuchung cytoplasmatischer Strukturen. Zool. Anz. **23**, Suppl., 393—419 (1960).
- Grundelemente der Zellstruktur. Naturwissenschaften **50**, 237—249 (1963).

Doz. Dr. med. H.P. ROHR
Dr. med. J. TORHORST
Pathologisches Institut der Universität
78 Freiburg i.Br., Albertstraße 19