

## Der Einfluß kupferarmer Kost auf das Pankreas

### Lichtmikroskopische Untersuchungen am exokrinen Teil der Bauchspeicheldrüsen weißer Ratten

H. B. MÜLLER

Anatomisches Institut (Lehrstuhl II) der Philipps-Universität Marburg a. d. Lahn  
(Direktor: Prof. Dr. med. G. Petry)

Eingegangen am 25. März 1970

### The Effect of a Copper-Deficient Diet on the Pancreas Light Microscopic Studies on the Exocrine Pancreatic Tissue in White Rats

*Summary.* The pancreases of 25 albino rats, which were fed with condensed milk (= Cu-deficient diet) after the suckling-period, were studied. Clinical signs of copper-deficiency observed were: retarded increase in weight, defective hair-covering, discolored incisors, diarrhea, slight exophthalmos. After 7 or more weeks of Cu-deficient nutrition the pancreas macroscopically shows severe atrophy and lipomatosis. Histologically, the acinar cells have a decreased basophilia, their RNA-content is also decreased, the zymogen-granules are reduced in number, and the nuclei are pyknotic or show karyolysis. Besides these atrophic changes, hypertrophic-degenerative changes develop with giant cells and giant nuclei. The normal acinar structure becomes more and more altered due to a destruction of the cells. Without preceding exudation or cellular infiltration the destroyed cells are replaced by connective-tissue and fat-cells. The findings are thought to be due to disturbances in enzyme-synthesis owing to Cu-deficiency, and are classed with the "metabolic lesions of the pancreas" (Doerr, 1964).

*Zusammenfassung.* Untersucht wurden die Bauchspeicheldrüsen von 25 Albinoratten, die nach der Säugeperiode ausschließlich mit Milch (= Cu-Mangelkost) gefüttert wurden. Der Beschreibung der Pankreasläsionen werden einige klinische Symptome der Cu-Mangelkrankheit vorangestellt: verzögerte Gewichtszunahme der Tiere, Fehldefekte, Farbänderung der Schneidezähne, Diarrhoe, leichter Exophthalmus. Die Bauchspeicheldrüsen weisen nach 7- und mehrwöchiger Cu-Mangeldiät makroskopisch hochgradige Atrophie und Lipomatose auf. Histologisch finden sich an den Acinuszellen verminderte Basophilie, RNS-Schwund, Abnahme des Zymogengranulagehalts sowie pyknotische und karyolytische Zellkerne. Daneben treten hypertrophisch-degenerative Veränderungen in Form von Riesenkernen und Riesenzellen auf. Durch Zelluntergänge wird die normale Acinusstruktur in zunehmendem Maße zerstört. Die Defekte werden durch Bindegewebe ersetzt, ohne daß es vorher zur Exsudatbildung oder zu cellulärer Infiltration kommt. Die Befunde werden auf Fermentsynthesestörungen infolge Cu-Mangels zurückgeführt und in den Formenkreis der „metabolischen Pankreasläsionen“ (Doerr, 1964) eingereiht.

Obwohl Kupfermangel im tierischen Organismus zu vielfältigen Funktionsstörungen führt (ausführl. Lit. s. Elvehjem, 1935; A. H. Müller, 1935; Brenner, 1953; Schütte, 1954), wurden morphologische Veränderungen bislang nur an wenigen Organen von Kupfermangeltieren beschrieben. Ergebnisse liegen an den Blutzellen (Lahey et al., 1952; Cartwright et al., 1956; u.a.), am Knochengewebe (Baxter et al., 1953; Follis et al., 1955; u.a.), am Gehirn (Schulz u. Behrens, 1960; u.a.) und am cardiovasculären System mit besonderer Berücksichtigung des elastischen Gewebes (O'Dell et al., 1961; Shields et al., 1962; Coulson u.

Carnes, 1963; Simpson u. Harms, 1964; Waisman u. Carnes, 1967) vor. Epitheliale Organe wurden dagegen kaum beachtet.

Im Anschluß an vorangegangene Mitteilungen über Strukturveränderungen der Gll. extraorbitales von Cu-Mangelratten (Müller, 1969, 1970) werden in der vorliegenden Arbeit die *Bauchspeicheldrüsen* dieser Tiere beschrieben.

### Material und Methode<sup>1</sup>

Als *Versuchstiere* dienten 65 konventionell gehaltene Wistarratten eigener Zucht, deren Eltern aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover, bezogen wurden. Die Tiere stammten aus Würfen mit 10—13 Jungen. Um vergleichbare Ausgangsbedingungen zu schaffen, wurden die Würfe am 2. oder 3. Lebenstage auf 9 Tiere reduziert.

Die *Kupfermangelkost* bestand aus kondensierter Kuhmilch<sup>2</sup> (Fettgehalt 7,54 %, EW 6,4 %, Gesamtrockenmasse 25,26 %). Gegenüber Frischmilch bietet Kondensmilch zwei Vorteile: 1. Sofern Kondensmilch aus einer Charge verwendet wird, ist eine gleichbleibende Zusammensetzung der Diät gewährleistet, und jahreszeitliche Schwankungen z. B. im Vitamin- und Mineralgehalt — bedingt durch die unterschiedliche Haltung der Kühe im Sommer und Winter — entfallen. 2. Um den Calorienbedarf der Ratten zu decken, braucht bei Verabreichung von Kondensmilch nur halb soviel Flüssigkeit zugeführt zu werden wie bei Verfütterung von Frischmilch. Dementsprechend ist die Gefahr, daß funktionelle und morphologische Organveränderungen infolge Unterernährung oder übermäßiger Flüssigkeitszufuhr auftreten — und damit eine Verfälschung der Versuchsergebnisse — relativ gering.

Da calorisch ausreichende Mengen Milch für Ratten nicht nur zuwenig Kupfer enthalten, sondern auch ein Defizit an anderen Mineralien und an Vitaminen aufweisen, hier aber nur die Folgen des Cu-Mangels interessierten, wurden zu je 100 ml Kondensmilch folgende Substanzen zugefügt:

- 25 mg Fe (als Eisen(II)-chlorid),
- 5 mg Mn (als Mangansulfat),
- 0,01 mg J (als Kaliumjodid),
- 0,008 mg Co (als Kobalt(II)-sulfat),
- 75 mg Cholinchlorid,
- 0,75 mg Pantothensäure (Ca-D(+)-pantothenat),
- 0,7 mg Folsäure,
- 0,5 mg Vitamin B<sub>1</sub> (Thiaminiumdichlorid),
- 0,1 mg Vitamin B<sub>2</sub> (Riboflavin),
- 0,25 mg Vitamin B<sub>6</sub> (Pyridoxolhydrochlorid),
- 100 IE Vitamin D<sub>2</sub> (Calciferol),
- 2,9 mg Vitamin E (DL- $\alpha$ -Tocopherol).

*Versuchs- und Kontrollgruppen.* Sämtliche Tiere blieben bis zum 21. Lebens-tage bei der Mutter und wurden ausschließlich mit Muttermilch ernährt. Um die Aufnahme fester Nahrung zu verhindern, wurden zunächst die Futterkrippen mit pelletierter Diät (Altromin-R) so angebracht, daß nur die Muttertiere sie erreichen konnten, später wurden die Muttertiere zur Nahrungsaufnahme von ihren Jungen getrennt. Koprophagie und das Fressen der Sägemehleinsteu ließen sich weitgehend dadurch vermeiden, daß in die Plastikkäfige, in denen die Ratten gehalten wurden, am 14. Tage nach der Geburt Bodenroste aus verzinktem Eisendraht (Maschenweite 12 × 12 mm) installiert wurden. Im Alter von drei Wochen wurden die Jungen eines jeden Wurfes auf die folgenden drei Gruppen verteilt:

1 Frl. G. Braunroth, Frl. R. Boos und Herrn E. Fraedrich danke ich für sorgfältige technische Mitarbeit.

2 Die Kondensmilch (Charge 837 C; 1968) wurde dankenswerterweise von der Glücksklee Milchgesellschaft mbH, Hamburg, zur Verfügung gestellt.

*Gruppe I (Kupfermangeltiere).* 25 Ratten (12♀ und 13♂) erhielten die oben beschriebene Cu-Mangelkost (aus Petrischalen) und Leitungswasser aus Tropfflaschen ad libitum.

*Gruppe II (Kontrollgruppe A).* 20 Tiere (10♀ und 10♂) bekamen ebenfalls Kondensmilch, der jedoch außer den bereits aufgezählten Vitaminen und Mineralien 0,5 mg Cu (als Kupfersulfat) pro 100 ml Milch zugesetzt wurde, so daß sie mit einer vollwertigen, ausschließlich flüssigen Diät ernährt wurden. Auch sie konnten Leitungswasser aus Tropfflaschen trinken, rührten es aber — ebenso wie die Tiere der Gruppe I — kaum an.

*Gruppe III (Kontrollgruppe B).* 20 Tiere (10♀ und 10♂) wurden bei pelletierter Standardkost (Altromin-R) und Leitungswasser aus Tropfflaschen gehalten.

Sämtliche Tiere waren in einem Raum untergebracht. — Umgebungstemperatur  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Im Alter von 4, 5, 7, 10 und 13 Wochen wurden von jeder der drei Gruppen 4 Tiere (2♀ und 2♂) durch Genickschlag getötet. Fünf weitere Cu-Mangeltiere wurden mit 10 (1♀), 11 (1♂), 12 (1♀ und 1♂) und 13 (1♂) Wochen getötet. Spontane Todesfälle kamen bei keiner Gruppe vor.

*Histologische Methoden.* Die herauspräparierten Drüsen wurden in Bouinscher und Orthoscher Flüssigkeit sowie in Formol-Calcium nach Baker fixiert. Einbettung über Zedernholzöl in Paraffin. Schnittdicke 5—8 µm. Vergleichsmaterial wurde zusammen aufgeblökt, geschnitten und gefärbt, um gleiche Schnittdicke und Färbedauer zu gewährleisten.

Folgende Färbungen (zumeist nach Romeis, 1948) wurden durchgeführt: Hämalaun-Erythrosin nach Mayer; Azan nach Heidenhain; modifizierte Goldner-Masson-Trichromfärbung (Jerusalem, 1963); Eisenhämatoxylin nach Heidenhain; Toluidinblau (1 %ige wässrige Lösung; pH 3,3); Gallocyanin-Chromalaun (pH 2,0); Nachweis von DNS mit Leukofuchsin (Feulgen und Rossenbeck, zit. nach Arnold, 1968); Nachweis von RNS und DNS mit Methylgrün-Pyronin (Kurnick, zit. nach Arnold, 1968); Glykogen-nachweis mit der BTA-Schiff-Reaktion (Shimizu und Kumamoto, 1952), Kontrollversuche: BTA-Schiff-Reaktion nach Diastaseverdauung und Schiff-Reaktion ohne vorherige Oxydation mit BTA.

## Befunde

### 1. Klinische Symptome der experimentellen Kupfermangelkrankheit

Während der ersten zwei Beobachtungswochen (4. und 5. Lebenswoche) unterscheiden sich die Cu-arm ernährten Ratten nicht von den Kontrolltieren. Mit zunehmender Dauer der Mangelernährung nimmt ihre Freßlust jedoch ab, ihr *Körpergewicht* bleibt mehr und mehr zurück (s. Tabelle) und ihre Vitalität ist vermindert. Wie aus der Tabelle hervorgeht, sind Männchen von dem Gewichtsrückstand stärker betroffen als Weibchen, doch ist bei beiden Geschlechtern das Körpergewicht von der 6. Lebenswoche an signifikant geringer als das der entsprechenden Tiere der Kontrollgruppen A (Milch + Cu) und B (pelletierte Nahrung). Zwischen den Tieren der beiden Kontrollreihen besteht demgegenüber nur eine vergleichsweise geringe Gewichtsdifferenz, die bei Gegenüberstellung sämtlicher Tiere dieser beiden Gruppen in keinem Alter signifikant ist. Erst die Aufschlüsselung nach Geschlechtern zeigt, daß vorübergehend — in der 8., 9. und 10. Lebenswoche — sowohl die Männchen als auch die Weibchen der Kontrollgruppe A eindeutig leichter sind als die entsprechenden Tiere der Gruppe B. — Die männlichen Kontrolltiere haben von der 5. (Kontrollgruppe A) bzw. 6. (Kontrollgruppe B) Lebenswoche an ein signifikant höheres Körpergewicht als die

Tabelle. Körperfewicht 1—13 Wochen alter, ♀ und ♂ Albinoratten, die nach der 3. Lebenswoche mit Cu-armen oder Cu-reicher (flüssiger und fester) Kost gefüttert wurden.  $\bar{x}$  = Mittelwert des Körperfewichts;  $s_x$  = Standardabweichung des Mittelwerts;  $s$  = Standardabweichung des Mittelwerts.

Alter (Wochen)	Ge- schlecht	Milch ohne Cu-Zusatz				Milch mit Cu-Zusatz				Pelletierte Nahrung			
		Anzahl Tiere	Körperfewicht (g)		Anzahl Tiere	Körperfewicht (g)		Anzahl Tiere	Körperfewicht (g)		Anzahl Tiere	Körperfewicht (g)	
			$\bar{x} \pm s_x$	$s$		$\bar{x} \pm s_x$	$s$		$\bar{x} \pm s_x$	$s$		$\bar{x} \pm s_x$	$s$
1	♀	12	13,5 ± 0,38	1,31	10	13,3 ± 0,44	1,40	10	13,3 ± 0,37	1,18	♀	13,5 ± 0,10	0,32
	♂	13	12,9 ± 0,36	1,31	10	13,3 ± 0,10	0,31	10	13,5 ± 0,10	0,32		13,5 ± 0,77	2,44
2	♀	12	27,0 ± 0,60	2,09	10	26,8 ± 0,86	2,70	10	26,5 ± 0,77	2,14	♂	26,1 ± 0,68	2,14
	♂	13	25,5 ± 0,65	2,33	10	26,2 ± 0,62	1,97	10	26,1 ± 0,68	2,14		25,0 ± 0,63	2,14
3	♀	12	39,2 ± 1,22	4,21	10	38,9 ± 1,64	5,17	10	38,2 ± 1,56	4,92	♂	35,1 ± 0,89	2,80
	♂	13	36,2 ± 0,90	3,23	10	37,0 ± 1,07	3,37	10	35,1 ± 0,89	2,80		35,0 ± 0,89	2,80
4	♀	12	62,0 ± 1,27	4,40	10	64,5 ± 1,83	5,79	10	65,7 ± 2,04	6,46	♀	63,2 ± 1,84	5,82
	♂	13	63,2 ± 0,81	2,91	10	67,5 ± 1,17	3,71	10	63,2 ± 1,84	5,82		63,2 ± 2,79	7,88
5	♀	10	88,9 ± 1,82	5,77	8	94,0 ± 3,12	8,82	8	98,9 ± 2,79	7,88	♂	100,2 ± 3,09	8,74
	♂	11	96,8 ± 2,17	7,20	8	103,0 ± 1,53	4,33	8	100,2 ± 3,09	8,74		100,2 ± 2,89	7,09
6	♀	8	107,6 ± 1,89	5,35	6	118,8 ± 3,52	8,63	6	126,8 ± 2,89	7,09	♀	124,9 ± 3,42	8,38
	♂	9	124,0 ± 2,09	6,26	6	138,5 ± 3,05	7,47	6	146,6 ± 3,74	9,17		146,6 ± 3,74	9,17
7	♀	8	121,3 ± 3,47	9,81	6	139,6 ± 3,11	7,61	6	181,1 ± 2,96	7,25	♂	173,3 ± 3,69	7,25
	♂	9	146,4 ± 2,98	8,94	6	172,8 ± 3,23	7,91	6	181,1 ± 2,96	7,25		181,1 ± 2,96	7,25
8	♀	6	128,6 ± 3,15	7,72	4	149,4 ± 2,35	4,70	4	160,7 ± 3,20	6,39	♀	219,8 ± 3,35	6,71
	♂	7	164,1 ± 5,12	13,56	4	203,7 ± 2,45	4,91	4	219,8 ± 3,35	6,71		219,8 ± 3,35	6,71
9	♀	6	133,6 ± 4,18	10,25	4	161,4 ± 2,56	5,12	4	173,3 ± 3,69	7,38	♂	246,7 ± 5,40	10,80
	♂	7	175,0 ± 9,11	24,10	4	226,9 ± 3,92	7,85	4	246,7 ± 5,40	10,80		246,7 ± 5,40	10,80
10	♀	6	140,3 ± 4,77	11,70	4	175,0 ± 2,17	4,33	4	186,3 ± 3,91	7,83	♀	276,5 ± 6,67	13,35
	♂	7	179,4 ± 9,25	24,49	4	249,9 ± 3,23	6,47	4	276,5 ± 6,67	13,35		276,5 ± 6,67	13,35
11	♀	3	149,7 ± 8,01	13,87	2	185,7 ± 2,20	3,11	2	189,5 ± 1,70	2,40	♂	303,6 ± 8,60	12,16
	♂	5	191,0 ± 12,64	28,27	2	257,0 ± 10,35	14,64	2	303,6 ± 8,60	12,16		303,6 ± 8,60	12,16
12	♀	3	149,1 ± 9,59	16,62	2	199,5 ± 0,85	1,20	2	200,2 ± 0,17	0,24	♀	318,5 ± 9,50	13,44
	♂	4	188,1 ± 12,93	25,86	2	275,8 ± 4,20	5,94	2	318,5 ± 9,50	13,44		318,5 ± 9,50	13,44
13	♀	2	158,1 ± 10,00	14,14	2	201,7 ± 8,30	11,74	2	209,7 ± 0,13	0,18	♂	331,0 ± 25,25	35,71
	♂	3	183,5 ± 4,22	7,32	2	292,4 ± 8,20	11,60	2	331,0 ± 25,25	35,71		331,0 ± 25,25	35,71

entsprechenden Weibchen. Bei den Cu-Mangeltieren besteht dieser Geschlechtsunterschied lediglich zwischen der 5. und 11. Lebenswoche; später, d.h. bei 12 und 13 Wochen alten Tieren, sind die Männchen nicht mehr eindeutig schwerer als die Weibchen.

Nach der 6. Lebenswoche treten bei den Cu-arm ernährten Ratten *Veränderungen am Fell* auf, die bei Tieren mit stärker reduziertem Körpergewicht früher zu beobachten sind und schwerere Formen annehmen als bei kräftigeren. Zunächst wird das Fell insgesamt struppig, glanzlos und etwas schütter. Dann fallen am Hals oder an den Schultern kleine, nahezu kahle Flecken auf, die sich in der Folgezeit auf die seitliche Brust- und Bauchwand ausdehnen. In ausgeprägten Fällen bleibt lediglich in der Mitte des Rückens und auf der Ventralseite ein 1—2 cm breiter Fellstreifen erhalten. Der übrige Stamm ist bis auf einen Flaum feiner Härchen nackt.

Die normalerweise orangefarbenen *Schneidezähne* sind bei den Cu-Mangeltieren hellgelb oder weißlich getönt. — Ferner besteht ein leichter *Exophthalmus* der blaßroten (anämischen) Augen.

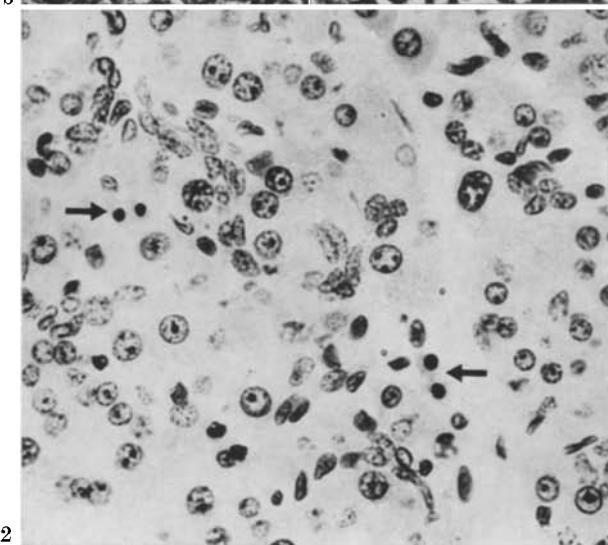
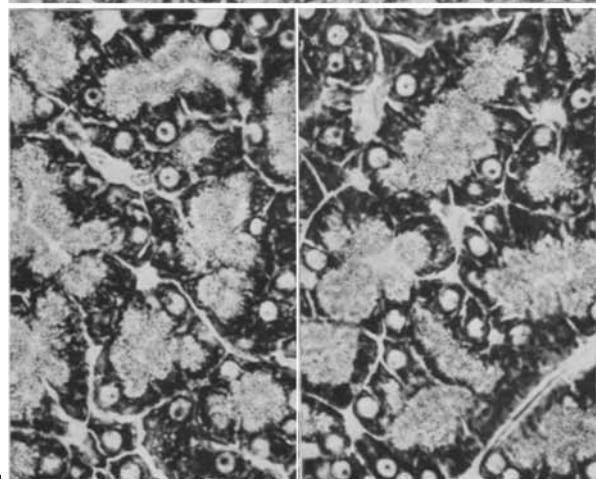
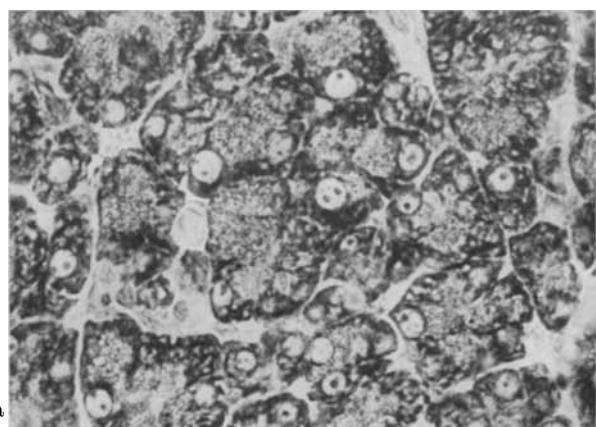
Der *Kot* ist bei sämtlichen Milchtieren (Gruppe I und II) heller gefärbt und von weicherer Konsistenz als bei den mit fester Nahrung gefütterten Ratten. Nach der 8.—9. Lebenswoche wird er bei den meisten Cu-Mangeltieren salbenartig oder griessuppenähnlich, während er bei den Tieren der Gruppe II (Milch + Cu) geformt bleibt.

## 2. Morphologische Befunde am Pankreas

a) Zwischen den Drüsen der *Milch + Cu-Ratten* und denen der konventionell ernährten Tiere bestehen makroskopisch keine und histologisch nur sehr diskrete Unterschiede: Die Acinusepithelien sind bei ausschließlich flüssiger Kost in der Regel leicht vergrößert und dichter mit Proenzymgranula beladen, so daß die Breite des etwas aufgelockerten basalen Ergastoplasmasaumes im Verhältnis zur gesamten Zellhöhe vermindert erscheint. An den Zellkernen lassen sich keine deutlichen Struktur- oder Größenunterschiede feststellen, und auch die Gangepithelien erfahren keine augenfälligen Veränderungen. Insgesamt liegt das Drüsenvbild innerhalb der normalen Variationsbreite.

b) Diese Befunde gelten bis zur 7. Lebenswoche auch für die *Kupfermangeltiere*. Erst danach, d.h. bei 10—13 Wochen alten Tieren bzw. nach 7—10 wöchiger Cu-armer Ernährung<sup>3</sup>, wirkt sich das Cu-Defizit auf das Bild des Pankreas aus: Mit bloßem Auge fällt eine deutliche *Atrophie* der Drüse auf. Die graurötlichen Läppchen sind vor allem im milznahen Teil des Organs durch gelbliches Fettgewebe ersetzt, so daß häufig nur noch unmittelbar am Duodenum ein größerer Bezirk mit Pankreasgewebe erhalten bleibt. Der Grad der atrophenischen Veränderungen zeigt — möglicherweise infolge individuell unterschiedlicher Kupferreserven der Tiere bei Versuchsbeginn — keine strenge Abhängigkeit von der Dauer der Mangernährung. So ist der Parenchymchwund bei einzelnen Tieren nach 7-wöchiger Mangeldiat gleich stark ausgeprägt wie bei anderen nach 10wöchiger; und umgekehrt sind die Drüsen bei einigen älteren Tieren weniger alteriert als bei manchen jüngeren. Da das auch für die mikroskopischen Befunde zutrifft, richtet sich die

<sup>3</sup> Ob auch schon nach 5- oder 6wöchiger Verabreichung der Cu-Mangelkost Läsionen am Drüsengewebe auftreten, läßt sich an Hand des vorliegenden Materials nicht entscheiden.



folgende Beschreibung zweckmäßigerweise nicht streng nach der Dauer der Mangelkostverabreichung, sondern nach dem Schweregrad der histologischen Veränderungen.

Erste Zeichen des Cu-Mangels treten am basalen *Ergastoplasma* und an den Kernen der Acinuszellen auf. Der Ergastoplasmasaum ist aufgelockert und von feinen Vacuolen durchsetzt, so daß er ohne scharfe Grenze in den apikalen Zellteil übergeht (Abb. 1 und 3); oder er ist zusammengesintert und bildet dann einen unscheinbaren Streifen an der Zellbasis. In beiden Fällen sind seine Basophilie und der RNS-Gehalt vermindert.

Die *Zellkerne* weisen außergewöhnliche Größen- und Strukturunterschiede auf (Abb. 2, 3 und 6): Neben leicht geschwollenen Kernen finden sich Riesenkerne mit einem Durchmesser bis zu  $17 \mu\text{m}$  sowie zahlreiche Pyknosen und Kerentrümmer. (Mittlerer Kerndurchmesser bei den Kontrolltieren:  $5,2 \mu\text{m}$ .) Die Kerndichte und -struktur zeigen keine konstante Abhängigkeit von der Größe. Zwar sind umfangreiche Kerne häufig chromatinarm und besitzen lediglich eine hyperchromatische Wand, während kleinere eher chromatinreich sind; doch kommen auch stark vergrößerte Exemplare vor, die dicht mit DNS-positivem Material angefüllt sind und deren Umriß runzelig erscheint. Ein genereller DNS-Schwund läßt sich nicht feststellen. Zeichen der Pyknose, der Karyorhexis oder Karyolyse können an Kernen jeder Größenordnung auftreten. Die Volumina der Nucleoli passen sich zumeist denen der Kerne an. Dementsprechend finden sich häufiger als bei den Kontrolltieren auffallend große Formen oder mehrere Nucleoli in einem Nucleus.

Mit der Größenzunahme der Kerne hält die des Cytoplasma in der Regel nicht Schritt, so daß sich die Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kerns verschiebt und das Drüsenvbild sehr kernreich wirkt. Zu diesem Eindruck trägt ferner bei, daß nicht selten deutlich verkleinerte Acini oder acinusähnliche Zellgruppen (Abb. 3) vorkommen, die in der Umgebung zu verdämmern scheinen bzw. sich auflösen, und deren Zellkerne dicht gedrängt liegen. Andererseits finden sich stellenweise Zellen, deren Kerne — häufig handelt es sich dabei um besonders große Exemplare — von einem mächtigen Cytoplasmahof umgeben sind (Abb. 3 und 4). Diese „Riesenzellen“ liegen einzeln zwischen dem übrigen Endstückepithel oder sind zu Gruppen angeordnet. Daneben trifft man im Acinusverband auf Zellnekrosen in Form von kugeligen oder ovoiden, kräftig acidophilen Gebilden ( $\varnothing 5-10 \mu\text{m}$ ), die ein oder zwei homogen-basophile, Feulgen-positive Körperchen enthalten.

Zahlreicher als bei den Kontrolltieren kommen in den Drüsen der Cu-Mangerratten *Mitosen* vor. Allerdings scheinen manche Zellen unmittelbar im Anschluß

Abb. 1a—c. Pankreas, 10 Wochen alte ♂♂ Ratten. Bouin, Toluidinblau. Vergr.  $630\times$ . a Cu-Mangeltier. Der basale Ergastoplasmasaum ist aufgelockert und geht ohne scharfe Grenze in den apikalen Zellteil über. Die Basophilie ist vermindert, die Zellkerne sind vergrößert. b Kontrolltier (Milch mit Cu-Zusatz). c Kontrolltier (pelletierte Standarddiät)

Abb. 2. Pankreas, 13 Wochen alte ♂ Cu-Mangelratte. Bouin, Feulgen-Reaktion. Vergr.  $520\times$ . Die Kerne der Acinusepithelien sind geschwollen (vgl. mit den stärker vergrößerten Abb. 1b u. c) und weisen deutliche Größen und Strukturunterschiede auf. Nekrotische Zellen liegen bisweilen paarweise zusammen (→)

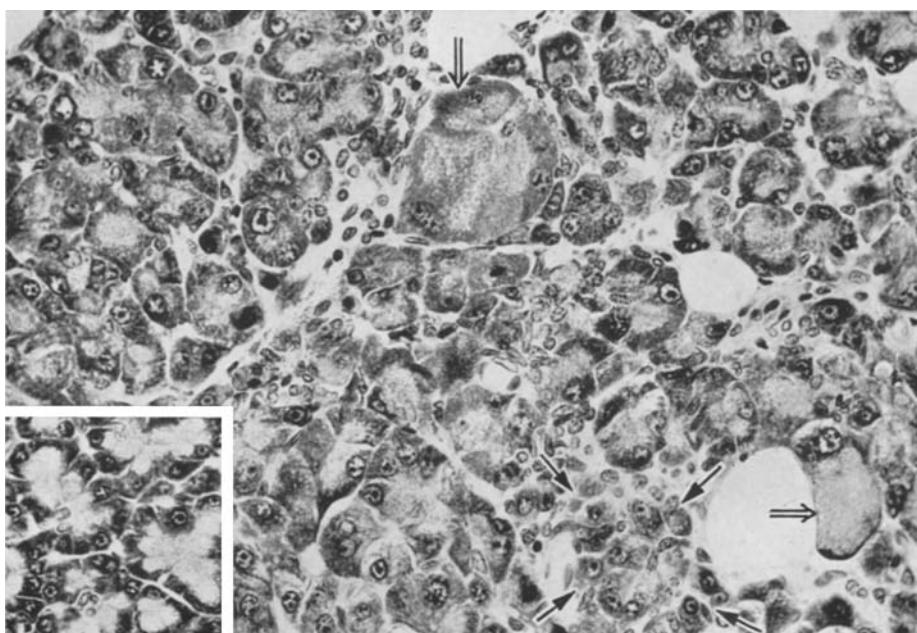


Abb. 3. Pankreas, 13 Wochen alte ♀ Cu-Mangelratte. Bouin, Gallocyanin-Chromalaun. Vergr. 350×. Neben mäßig hypertrophierten Zellen, die in acinusähnlichen Gruppen angeordnet sind, finden sich einzelne „Riesenzellen“ (↔) sowie Endstückzellen, die in der Umgebung zu verdämmern scheinen (ein solches Areal ist durch → markiert). Einsatzbild: Pankreas eines gleichaltrigen ♀ Kontrolltieres (pelletierte Kost) bei gleicher Vergrößerung

an die Teilung zugrunde zu gehen. So jedenfalls ließe sich der Befund erklären, daß Zellnekrosen, wie in Abb. 2 gezeigt, bisweilen paarweise angetroffen werden.

Auffallend variabel ist die *Sekretbeladung* der Parenchymzellen; neben sekreteerleeren Elementen (Abb. 4) finden sich andere — nicht selten sind es Riesenzellen — die so viele Proenzymkörnchen enthalten, daß nach Orthscher Fixierung oder nach Formol-Calcium, bei denen die Granula besonders gut erhalten bleiben, von den Zellstrukturen nur noch die Kerne durchschimmern. Zwischen diesen beiden Extremen, d.h. zwischen sekreteerleeren und dicht mit Sekret vollgestopften Zellen, bestehen zahlreiche Übergänge; im Mittel enthalten die Endstückzellen bei Cu-Mangelkost eine deutliche verminderte Anzahl Cymogengranula, und die Lumina der Ausführungsgänge, die bei den Kontrolltieren in der Regel einen kräftig acidophilen Inhalt aufweisen, sind meistens leer.

Die Zellen der *Schaltstücke* und größeren *Gänge* scheinen gegenüber Cu-Mangel unempfindlicher zu sein als die der Acini. Bis auf eine gelegentliche Kernschwellung treten zunächst keine lichtmikroskopisch erkennbaren Strukturveränderungen auf. Die Anzahl der Ganganschnitte pro Gesichtsfeld ist bei den Cu-Mangeltieren erhöht, was auf einer Verminderung der Acinuszellzahl je Flächeneinheit — infolge Zelluntergangs — beruhen dürfte.

Mit fortschreitender Schädigung des Drüsenparenchyms nimmt das intra- und interlobuläre Binde- und Fettgewebe mehr und mehr auf Kosten der Endstück-

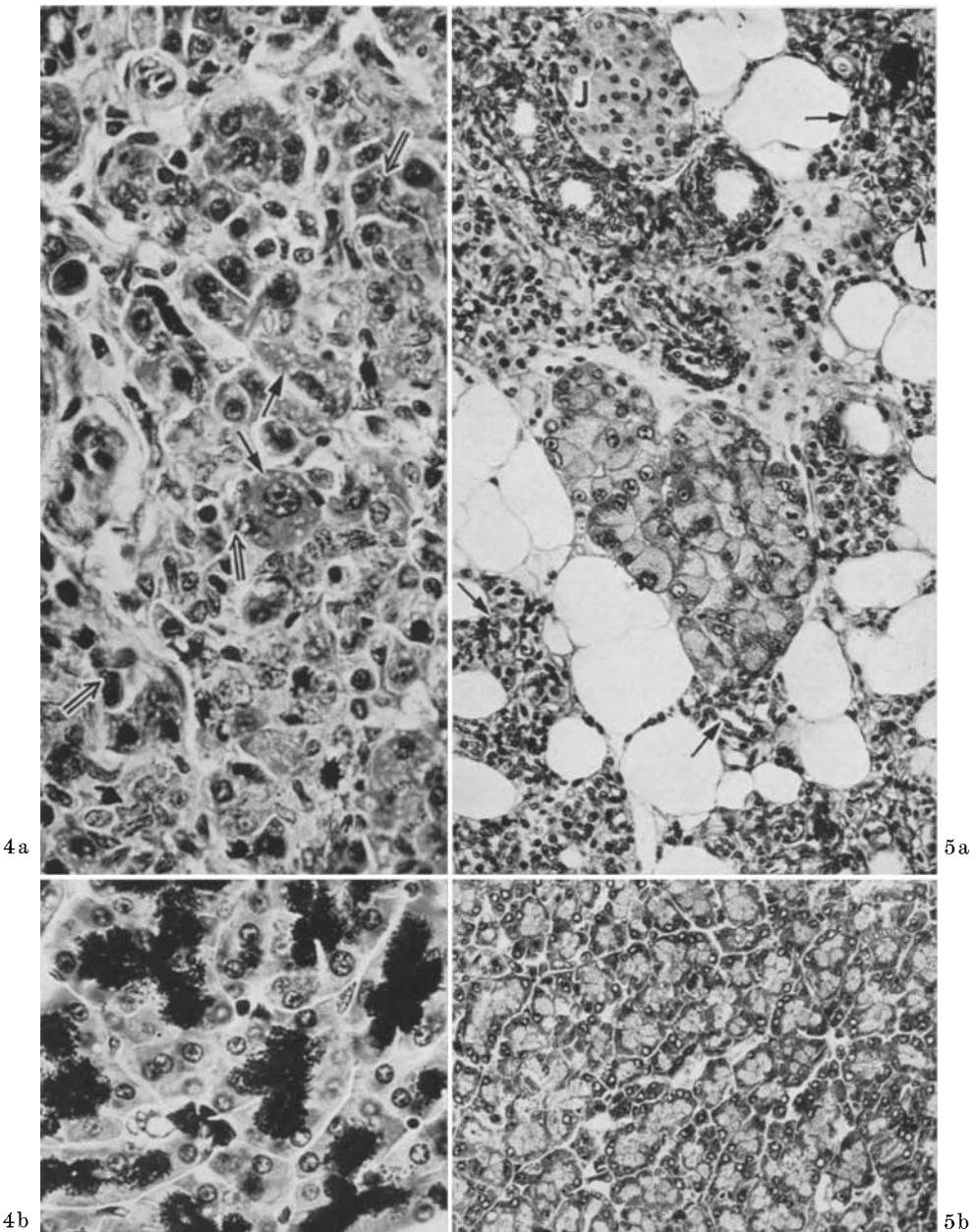


Abb. 4a u. b. Pankreas, 10 Wochen alte ♀♀ Ratten. Formol-Ca, Masson-Goldner-Jerusalem. Vergr. 560×. a Cu Mangeltier. Die hypertrophierten Acinuszellen umschließen feine Vacuolen (→) und verdämmern z. T. im umgebenden Bindegewebe. Sekretgranula kommen nur ganz vereinzelt vor (====). b Kontrolltier (pelletierte Kost). Die Endstückzellen enthalten zahlreiche Cymogengranula (in der Abbildung schwarz)

Abb. 5a u. b. Pankreas, 13 Wochen alte ♂♂ Ratten. Bouin, Azan. Vergr. 224×. a Cu-Mangeltier. Die Drüse ist nahezu völlig durch Fettgewebe ersetzt, in das inkretorische Inseln (J) sowie Areale mit hypertrophierten exokrinen Zellen und zahlreichen Gangepithelien eingebettet sind. Die Schaltstückzellen lassen sich z. T. nicht von Fibroblasten unterscheiden. Nur stellenweise umschließen sie Lichtungen (→). b Kontrolltier (Milch mit Cu-Zusatz). Vgl. die Zell- und Kerngrößen mit denen der hypertrophierten Endstückzellen in Abb. 5a

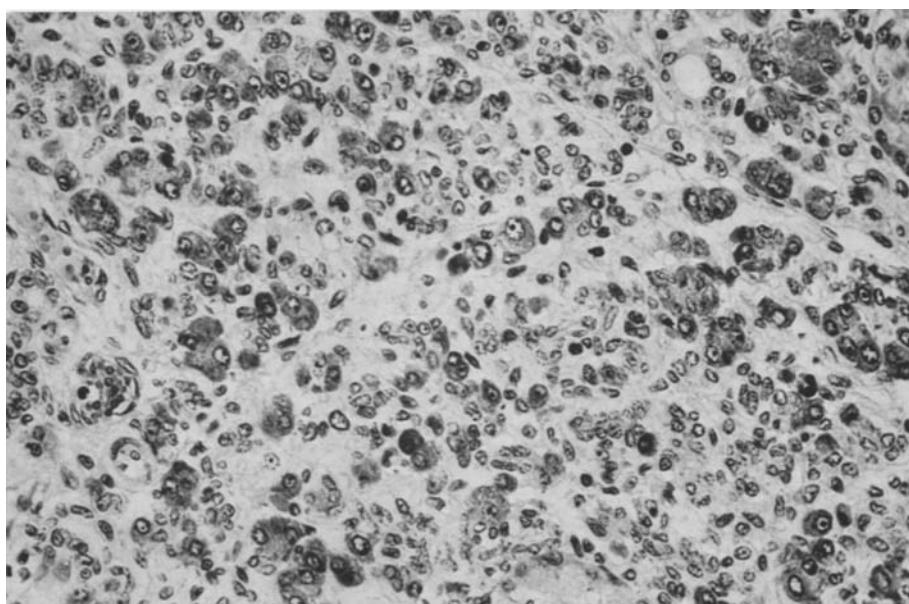


Abb. 6. Pankreas, 10 Wochen alte ♂ Cu-Mangelratte. Bouin, HE. Vergr. 350×. Die Teile der Drüse, die nicht durch Fettgewebe ersetzt sind, bestehen aus lockerem Bindegewebe, in das degenerierte Acinuszellen und zahlreiche Gangepithelien, die nur noch selten ein Lumen umschließen, eingebettet sind

zellen zu (Abb. 5 und 6). Unter den restlichen Acinusepithelien beherrschen hypertrophierte Zellen das Bild (Abb. 3, 4 und 5). Schließlich besteht der überwiegende Teil des Organs aus Fettgewebe, das neben inkretorischen Inseln nur vereinzelt Areale mit exokrinen Zellen umschließt (Abb. 5). Auch Läppchen, die makroskopisch als Drüsengrenzparenchym imponieren, besitzen histologisch kaum noch Ähnlichkeit mit Pankreasgewebe: In ein fibroblastenreiches Bindegewebsslager sind große Zellen eingebettet, die zu unregelmäßig gestalteten Komplexen angeordnet sind oder als abgerundete Elemente einzeln liegen (Abb. 6). Ihr Cytoplasma kann scharf gegen die Umgebung abgegrenzt sein oder in ihr verdämmern. Es enthält feine Vacuolen und nur vereinzelt Sekrettropfen (Abb. 4). Nur manchmal ist es auch jetzt noch über und über mit Granula bepackt. Die mit Toluidinblau färbbaren basophilen Strukturen sind ungerichtet über den gesamten Zelleib verstreut oder an der Zellperipherie angehäuft, so daß sich Zellapex und -basis nicht voneinander unterscheiden lassen.

Noch stärker als in den weniger alterierten Drüsen treten jetzt die *Gangepithelien* zahlenmäßig in den Vordergrund. Sie liegen teils regellos, teils zu schaltstückähnlichen Formationen zusammengeschlossen zwischen den Überresten der Endstücke und sind bisweilen kaum von Fibroblasten zu unterscheiden (Abb. 5 und 6).

Trotz der massiven Zelluntergänge war keine der untersuchten Drüsen von Entzündungszellen infiltriert.

Geschlechtsspezifische Unterschiede, wie sie an der Gl. extraorbitalis beobachtet wurden, die bei männlichen Cu-Mangelratten regelmäßig schwerer geschädigt war als bei Weibchen (Müller, 1969, 1970), lassen sich am Pankreas nicht feststellen.

### Diskussion

Obwohl sich seit den ersten Untersuchungen an kupferarm ernährten Ratten (Hart, Steenbock, Waddell, Elvehjem, 1928; Waddell, Steenbock, Elvehjem, Hart, 1929) zahlreiche Autoren mit den Folgen des Cu-Mangels für den tierischen Organismus befaßten, finden sich bisher keine Angaben über pathologische Veränderungen des Pankreas oder anderer exokriner Drüsen bei Cu-Mangeltieren. Lahey et al. (1952) betonen sogar, daß das Pankreas, die Leber, die Nieren und einige andere Organe bei Cu-arm ernährten Schweinen keine histologischen Abnormitäten aufweisen. Zwar muß die Richtigkeit dieser Aussage bezweifelt werden, da bei einer so hochgradigen Anämie (Hb-Werte bis hinab zu 2 g % !), wie sie von den Autoren beobachtet wurde, zumindest eine Lebervorfettung zu erwarten ist; trotzdem stellt sich aufgrund dieser Behauptung die Frage, ob die hier mitgeteilten Befunde wirklich auf einer Cu-Verarmung der Pankreaszellen beruhen, oder ob sie möglicherweise durch andere Ursachen bedingt sind, die ebenfalls zu Entparenchymisierung, Fibrose und Lipomatose der Bauchspeicheldrüse führen.

Zweifellos besteht irgendein ursächlicher Zusammenhang zwischen den Drüsenvoränderungen und der Cu-Mangelernährung; anders läßt sich die Tatsache nicht erklären, daß nur die Drüsen der Cu-Mangeltiere, nicht aber die der Kontrolltiere betroffen sind. Es ist jedoch denkbar, daß das Cu-Defizit lediglich *mittelbar* für die Läsionen verantwortlich ist, daß also *nicht* die Beziehung

Cu-Mangel → Pankreasläsion, (1)

sondern eine der folgenden „Reaktionsketten“ vorliegt:

Cu-Mangel → außerpankreatische Organveränderungen (z. B. Leber-, Nieren- oder Darmveränderungen u. a.) → Pankreasläsion. (2)

Cu-Mangel → Schwächung der Abwehrkräfte des Organismus → Infekt → Pankreasläsion. (3)

Mit der Reaktionsfolge (3) ließen sich die Unterschiede unserer Ergebnisse zu denen von Lahey et al. (1952) erklären, wenn man annimmt, daß unsere Versuchstiere mit fakultativ pathogenen Keimen infiziert wurden. In diesem Falle — und auch beim Vorliegen der Reaktion (2) — wären die Bauchspeicheldrüsen in Form einer Infekt- oder Begleitpankreatitis betroffen. Pathologisch-anatomisch müßten sie also das Bild einer akuten serösen oder einer chronisch-serösen Pankreatitis bieten. Das trifft jedoch nicht zu. Zwar können Infekt- und Begleitpankreatitiden ebenfalls zu Fibrose, Sklerose oder Cirrhose des Organs führen (Doerr, 1952; GÜTHERT, 1958). Bei bestimmten Virusinfekten wurden neben einer Lipomatose sogar hypertrophische Acini beobachtet, so daß das Bild dem hier beschriebenen ähnelt (PAPPENHEIMER, KUNZ und RICHARDSON, 1951). Allein in den Anfangsstadien der Begleitpankreatitis tritt ein perivasculäres, seröses Exsudat auf (SEIFERT, 1954, 1956) und bei pankreotropen Virusinfekten finden sich lymphoplasmazelluläre Infiltrate in den Interstitien der Drüse. — Die hier beschriebenen Veränderungen beginnen demgegenüber mit degenerativen Veränderungen der Aci-

nuszellen, an die sich die Sklerose und Lipomatose unmittelbar anschließen, ohne daß es vorher zu einer wesentlichen Exsudatbildung oder zu einer cellulären Entzündungsreaktion kommt. Das morphologische Bild spricht also gegen die Entstehung der Läsionen nach dem Modus (2) oder (3), d. h. gegen eine nur indirekte Wirkung des Cu-Mangels. — Daß Lahey et al. (1952) keine Pankreasschädigung feststellten, könnte entweder darauf beruhen, daß die Drüsen von Schweinen gegenüber Cu-Mangel weniger empfindlich reagieren als die der Ratten, oder — und das ist wahrscheinlicher — daß die Tiere, deren Organe histologisch aufgearbeitet wurden, noch vor Ausbildung der Pankreasläsionen untersucht wurden.

Nach Doerr (1964) lassen sich die Affektionen der Bauchspeicheldrüse pathogenetisch bzw. ätiologisch in „A. Metabolische Läsionen mit entzündlichem Organumbau, B. Infekt- oder Begleitpankreatitiden“ und „C. Autodigestiv-tryptische Pankreatitiden“ unterteilen. Die vorliegenden Befunde können nach dem oben Gesagten nicht auf einer Infektpankreatitis beruhen, und auch mit dem Bild der autodigestiv-tryptischen Pankreatitis (Wanke, 1968) stimmen sie keinesfalls überein. Es bleibt also der Formenkreis der metabolischen Läsionen übrig, die Doerr (1964) nach ihren Ursachen in „1. „zu viel“ oder „zu wenig“ an funktionellen Reizen, 2. Stoffwechselblockaden, Hemmung der Enzymsynthese“ und „3. erbliche Stoffwechselbesonderheiten“ gliedert.

Da Punkt 3. in unserem Fall kaum vorliegen dürfte — die Kontrolltiere, deren Bauchspeicheldrüsen ein normales Bild boten, waren Geschwistertiere der Cu-Mangeltatten — ist zu überlegen, ob ein verminderter oder vermehrter Zustrom an funktionellen Reizen oder Enzymsynthesestörungen bzw. Stoffwechselblockaden als Ursache der Läsionen in Frage kommen:

Die physiologischen Reize für das Pankreas gehen von der zugeführten Nahrung aus (Becker, 1957). Diese war, was die sekretionsauslösenden Bestandteile (Fette, EW, Wasser, Säuren etc.) betrifft, bei sämtlichen Milchtieren gleich. Da physiologische Daten keinerlei Anhaltspunkte dafür liefern, daß Cu-Ionen eine wesentliche Reizwirkung auf das Pankreas ausüben, und wenn man spekulative Überlegungen wie z. B. die, daß Kupfer möglicherweise für die Sekretin- oder Pankreozyminproduktion wichtig sein könnte, außer acht läßt, kann angenommen werden, daß den Drüsen der Cu-Mangeltiere ein qualitativ und quantitativ gleicher Reizstrom zufloß wie denen der Milch+Cu-Tiere.

Somit dürften durch Cu-Mangel bedingte Fermentsynthesestörungen am ehesten als Ursache in Frage kommen. Hierfür sprechen auch die aus der biochemischen Literatur bekannten Fakten über die biologische Bedeutung des Kupfers, das bei mehreren enzymatischen Prozessen eine Rolle spielt, wobei der genaue Wirkungsmechanismus des Spurenelements allerdings zumeist noch ungeklärt ist (Schütte, 1954). So enthält z. B. die Cytochromoxydase, die an entscheidender Stelle in der Atmungskette wirksam ist, neben Eisen auch Kupfer, von dem angenommen wird, daß es sich durch Valenzwechsel an der katalytischen Funktion beteiligt (Karlson, 1964). Ferner wurde Kupfer in der Tyrosinase und in anderen Phenoloxydasen, in Aminoxydasen, in der Uricase, in der Acyl-CoA-Dehydrogenase sowie in einigen weiteren Enzymen gefunden (vgl. Brenner, 1953; Leuthardt, 1963; Rapoport, 1966). Obgleich einzelnen dieser Fermente sicher keine direkte Bedeutung für die Pankreasfunktion zukommt, und bei anderen nur Vermutungen über diese Bedeutung geäußert werden können, zeigt die Aufzählung, daß Cu an mehreren Stellen in den Stoffwechsel der Bauchspeicheldrüse eingreifen könnte, wobei ein Eingreifen in den Energiehaushalt der Zellen als gesichert an-

gesehen werden kann (Gallagher et al., 1956), und eine direkte oder indirekte Beeinflußung des EW-Stoffwechsels wahrscheinlich ist.

In diesem Zusammenhang ist es bemerkenswert, daß unter Cu-Mangel vor allem seröse Drüsenzellen („Eiweißzellen“) leiden: Im Pankreas, in der Gl. extraorbitalis (Müller, 1969, 1970) und in den serösen Halbmondzellen der Sublingualis finden sich besonders ausgeprägte Veränderungen, während die mukösen Zellen der Gl. sublingualis, die seromukösen der Gl. submandibularis und die Hardersche Drüse, die ein fetthaltiges Sekret produziert, morphologisch vergleichsweise wenig alteriert sind (Müller, unveröffentl. Befunde).

Von den vorliegenden Befunden sprechen vor allem die RNS-Abnahme und die feinblasige Vacuolisierung im Bereich des basalen Ergastoplasmasmaumes für eine Störung des EW-Stoffwechsels. Auch die Größenzunahme der Zellkerne könnte als Reaktion auf eine gestörte EW-Synthese gedeutet werden. Ob diese Veränderungen auf einer Hypoxydose infolge der verminderten Cytochromoxydase-Aktivität (Schultze, 1939; Gallagher et al., 1956; Gubler et al., 1957; Howell und Davison, 1959) beruhen, oder ob sie unabhängig davon auftreten, können möglicherweise ultrastrukturelle Untersuchungen in den frühen Stadien der Cu-Mangelschädigung zeigen, bei denen zunächst entweder Läsionen an den Mitochondrien (Büchner, 1962) oder am Ergastoplasma (Herman und Fitzgerald, 1962) im Vordergrund stehen müßten.

Vergleicht man das Bild der Cu-Mangel-Pankreopathie mit dem anderer metabolischer Pankreasläsionen, die ebenfalls durch Stoffwechselblockaden oder Enzymsynthesestörungen z. B. durch EW-arme Kost (Véghelyi et al., 1950; Wachstein und Meisel, 1954; Scrimshaw und Behar, 1961; Paradisi und Cavazzuti, 1965), durch bestimmte Avitaminosen (Stosch, 1940; Faller, 1956) oder durch Äthioninvergiftung (Becker, 1956, 1957) bedingt sind, so fallen neben morphologischen Gemeinsamkeiten (verminderter Basophilie, Zellatrophie, Untergang acinösen Gewebes) charakteristische Eigenarten des jeweiligen Bildes auf, die bei der Cu-Mangel-Pankreopathie in dem Nebeneinander von Atrophie und (degenerativer) Hypertrophie bestehen. Diese Eigentümlichkeiten dürften darauf zurückzuführen sein, daß die auslösenden Ursachen teils akute Eingriffe in den cellulären Funktionsablauf darstellen, teils eine nur langsam zunehmende Wirkung auf den Zellstoffwechsel ausüben. Während akute Schädigungen wie z. B. die Äthioninvergiftung innerhalb weniger Stunden zu schweren Läsionen führen (Becker, 1956), weil den Zellen — sozusagen — nicht genügend Zeit bleibt, sich der veränderten Stoffwechsellage anzupassen, stellt die Cu-Mangelkost eine chronisch progrediente Schädigung dar, auf die die Zellen mit hypertrofischen Veränderungen antworten können, bevor sie erschöpft zugrunde gehen. — Trifft diese Vermutung zu, so kann die Art der hier gewählten Kost insofern für die Entstehung des beschriebenen Bildes ausschlaggebend sein, als der Cu-Vorrat der Tiere nur sehr langsam abnehmen konnte, da nicht Cu-freie, sondern Cu-arme Diät verabreicht wurde. Eine völlig Cu-freie Nahrung, z. B. durch Sulfidbehandlung entkupferierte Milch, von der zu erwarten ist, daß sie zu einer rascheren Läsion der Drüse führt, könnte demnach zur Folge haben, daß die Hypertrophie der Acinuszellen ausbleibt, und die entzündliche Reaktion mehr akute Züge erhält, so daß man dann evtl. von einer Cu-Mangel-Pankreatitis sprechen müßte. Für die hier beschriebenen Befunde ist dagegen die Bezeichnung Cu-Mangel-Pankreopathie eher angebracht.

### Literatur

- Arnold, M.: Histochemie. Einführung in Grundlagen und Prinzipien der Methoden. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Baxter, J. H., Wyk, J. J. van, Follis, R. H.: A bone disorder associated with copper deficiency. II. Histological and chemical studies on the bones. Bull. Johns Hopk. Hosp. **93**, 25—30 (1953).
- Becker, V.: Die chronische Äthioninvergiftung der Ratte. Verh. dtsch. Ges. Path. **40**, 247—252 (1956).
- Sekretionsstudien am Pankreas. Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie, Heft 1, Hrsg. W. Bargmann und W. Doerr. Stuttgart: Georg Thieme 1957.
- Brenner, W.: Die Bedeutung des Kupfers in Biologie und Pathologie unter besonderer Berücksichtigung des wachsenden Organismus. Ergebni. inn. Med. Kinderheilk., N. F. **4**, 806—974 (1953).
- Büchner, F.: Allgemeine Pathologie. München-Berlin: Urban und Schwarzenberg 1962.
- Cartwright, G. E., Gubler, C. J., Bush, J. A., Wintrobe, M. M.: Studies on copper metabolism. XVII. Further observations on the anemia of copper deficiency in swine. Blood **11**, 143—153 (1956).
- Coulson, W. F., Carnes, W. H.: Cardiovascular studies on copper-deficient swine. V. The histogenesis of the coronary artery lesions. Amer. J. Path. **43**, 945—954 (1963).
- Doerr, W.: Die pathologische Anatomie der akuten und chronischen parenchymatösen und interstitiellen Pankreopathien. Zit. nach Dtsch. med. Wschr. **77**, 1550—1551 (1952). (Ref.).
- Pathogenese der akuten und chronischen Pankreatitis. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 70. Kongr. 718—758 (1964).
- Elvehjem, C. A.: The biological significance of copper and its relation to iron metabolism. Physiol. Rev. **15**, 471—507 (1935).
- Faller, A.: Über den Einfluß der  $B_1$ -Avitaminose auf den Inselapparat und das exokrine Pankreas der Ratte. Acta anat. (Basel) **28**, 382—383 (1956).
- Follis, R. H., Bush, J. A., Cartwright, G. E., Wintrobe, M. M.: Studies on copper metabolism. XVIII. Skeletal changes associated with copper deficiency in swine. Bull. Johns Hopk. Hosp. **97**, 405—413 (1955).
- Gallagher, C. H., Judah, J. D., Rees, K. R.: The biochemistry of copper deficiency. I. Enzymological disturbances, blood chemistry and excretion of amino-acids. Proc. Roy. Soc. B. **145**, 134—150 (1956).
- Gubler, C. J., Cartwright, G. E., Wintrobe, M. M.: Studies on copper metabolism. XX. Enzyme activities and iron metabolism in copper and iron deficiencies. J. biol. Chem. **224**, 533—546 (1957).
- Güthert, H.: Pankreas. In: Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, begründet von E. Kaufmann, Hrsg. M. Stämmler, Bd. II/2, 1334—1407, 11. u. 12. Aufl. Berlin: W. de Gruyter u. Co. 1958.
- Hart, E. B., Steenbock, H., Waddell, J., Elvehjem, C. A.: Iron in nutrition. VII. Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. J. biol. Chem. **77**, 797—812 (1928).
- Herman, L., Fitzgeralds, P. J.: The degenerative changes in pancreatic acinar cells caused by DL-Ethionine. J. Cell Biol. **12**, 277—296 (1962).
- Howell, J. M., Davison, A. N.: The copper content and cytochrome oxidase activity of tissues from normal and swayback lambs. Biochem. J. **72**, 365—368 (1959).
- Jerusalem, C.: Eine kleine Modifikation der Goldner-(Masson-)Trichromfärbung. Z. wiss. Mikr. **65**, 320—321 (1963).
- Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler, 4. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme 1964.
- Lahey, M. E., Gubler, C. J., Chase, M. S., Cartwright, G. E., Wintrobe, M. M.: Studies on copper metabolism. II. Hematologic manifestations of copper deficiency in swine. Blood **7**, 1053—1074 (1952).
- Leuthardt, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie, 15. Aufl. Berlin: W. de Gruyter u. Co. 1963.
- Müller, A. H.: Die Rolle des Kupfers im Organismus mit besonderer Berücksichtigung seiner Beziehungen zum Blut. Ergebni. inn. Med. Kinderheilk. **48**, 444—469 (1935).

- Müller, H. B.: Morphologische Veränderungen der Extraorbitaldrüsen weißer Ratten nach Kupfermangelernährung. *Experientia (Basel)* **25**, 636—637 (1969).
- Über den Einfluß kupferarmer Kost auf die Glandula Extraorbitalis der weißen Ratte. *Verh. Anat. Ges. (1970)*, Ergänzungsh. z. Anat. Anz. (im Druck).
- O'Dell, B. L., Hardwick, B. C., Reynolds, G., Savage, J. E.: Connective tissue defect in the chick resulting from copper deficiency. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **108**, 402—405 (1961).
- Pappenheimer, A. M., Kunz, L. J., Richardson, S.: Passage of coxsackie virus (Connecticut-5 strain) in adult mice with production of pancreatic disease. *J. exp. Med.* **94**, 45—64 (1951).
- Paradisi, F., Cavazzuti, F.: Exocrine pancreas and experimental dietary lesions. *Gastroenterologia (Basel)* **103**, 1—14 (1965).
- Rapoport, S. M.: Medizinische Biochemie. Lehrbuch für Studierende und Ärzte, 4. Aufl. Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit 1966.
- Romeis, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. München: R. Oldenbourg 1948.
- Schütte, E.: Mineralstoffwechsel. In: *Physiologische Chemie. Ein Lehr- und Handbuch für Ärzte, Biologen und Chemiker*, Hrsg. B. Flaschenträger, Bd. II/1a, S. 608—700. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.
- Schultze, M. O.: The effect of deficiencies in copper and iron on the cytochrome oxidase of rat tissues. *J. biol. Chem.* **129**, 729—737 (1939).
- Schulz, L.-Cl., Behrens, H.: Beitrag zur Pathogenese der Kupfermangelencephalopathie des Schaflammes. (Swayback.) *Beitr. path. Anat.* **122**, 282—288 (1960).
- Scrimshaw, N. S., Béhar, M.: Protein malnutrition in young children. *Science* **133**, 2039—2047 (1961).
- Seifert, G.: Zur Pathologie des kindlichen Pankreas bei akuten und chronischen Ernährungsstörungen. *Beitr. path. Anat.* **114**, 1—47 (1954).
- Die Pathologie des kindlichen Pankreas. Leipzig: VEB Georg Thieme 1956.
- Shields, G. S., Coulson, W. F., Kimball, D. A., Carnes, W. H., Cartwright, G. E., Wintrobe, M. M.: Studies on copper metabolism. XXXII. Cardiovascular lesions in copper-deficient swine. *Amer. J. Path.* **41**, 603—621 (1962).
- Shimizu, N., Kumamoto, T.: Histochemical studies on the glycogen of the mammalian brain. *Anat. Rec.* **114**, 479—498 (1952).
- Simpson, C. F., Harms, R. H.: Pathology of the aorta of chicks fed a copper-deficient diet. *Exp. molec. Path.* **3**, 390—400 (1964).
- Stosch, W.: Quantitative Untersuchungen am Pankreas der  $B_1$ -avitaminotischen weißen Maus. *Anat. Anz.* **89**, 370—376 (1940).
- Véghelyi, P. V., Kemény, T. T., Pozsonyi, J., Sos, J.: Dietary lesions of the pancreas. *Amer. J. Dis. Child.* **79**, 658—665 (1950).
- Wachstein, M., Meisel, E.: Relation of dietary protein levels to pancreatic damage in the rat. *Proc. Soc. exp. Med.* **85**, 314—317 (1954).
- Waddell, J., Steenbock, H., Elvehjem, C. A., Hart, E. B.: Iron in nutrition. IX. Further proof that the anemia produced on diets of whole milk and iron is due to a deficiency of copper. *J. Biol. Chem.* **83**, 251—260 (1929).
- Waismann, J., Carnes, W. H.: Cardiovascular studies on copper-deficient swine. X. The fine structure of the defective elastic membranes. *Amer. J. Path.* **51**, 117—135 (1967).
- Wanke, M.: Experimentelle Pankreatitis. Proteolytische, lipolytische und biliäre Form. Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie, H. 19, Hrsg. W. Bargmann und W. Doerr. Stuttgart: Georg Thieme 1968.

Dr. med. H. B. Müller  
D-3550 Marburg a. d. Lahn  
Alter Kirchhainer Weg 21