

Die spontane Amyloidose der Maus

II. Die isolierte Altersamyloidose der Hoden*

W. ZSCHIESCHE und S. FRITSCH

Zentralinstitut für Mikrobiologie und Experimentelle Therapie
der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Jena

(Direktor: Prof. Dr. med. H. Knöll),

Abt. Experimentelle Pathologie (Leiter: Prof. Dr. med. G. Bruns)

Eingegangen am 4. Juni 1970

Spontaneous Amyloidosis of the Mouse

II. Local Senile Amyloidosis of the Testis

Summary. Studies on the spontaneous amyloidosis of mice revealed an age-dependent form of local testicular deposition of amyloid of the peri-collagenous type. Amyloid formation starts from the adventitia of smaller arteries and arterioles and spreads into the interlobular connective tissue. Frequently, the tunica propria of the seminiferous tubules is involved, leading to local atrophy of the seminal epithelium and Sertoli cells. The Leydig cells fail to show any relationship to the first amyloid deposits. The ultrastructure of testicular amyloid fits in with that of other types of both animal and human amyloidoses except for a relative high portion of amorphous ground substance between the fibrils. Since weaker histochemical reactions for protein and neutral mucopolysaccharides have been found than in experimental mouse amyloid, a masking of chemical groups responsible for these reactions on the fibrils by components of the ground substance is suggested. The local testicular amyloid referred to above is classified as a senile type of amyloid disease and can be regarded as a murine model of the human senile amyloidosis.

Zusammenfassung. Es wird eine isolierte testikuläre Amyloidose der Maus vom perikollagenen Typ beschrieben. Die Ablagerung beginnt perivaskulär und führt zu einer progradienten Infiltration des gesamten interstitiellen Bindegewebes mit Einbeziehung der Tunica propria der Tubuli contorti. Hierdurch kommt es zu lokalen regressiven Veränderungen des Samenepithels. Die fibrilläre Feinstruktur des Amyloids entspricht bekannten Befunden. Auffallend ist ein relativ hoher Anteil an amorpher Zwischensubstanz. Im Zusammenhang mit dem abgeschwächten Ausfall der meisten für Amyloid typischen histochemischen Protein- und Polysaccharidreaktionen ist an eine Maskierung der Fibrillen durch Grundsubstanzkomponenten zu denken. Die beschriebene Hodenamyloidose entspricht pathogenetisch einer senilen Form und stellt das murine Modell einer menschlichen Altersamyloidose dar.

Testikuläre Amyloidablagerungen wurden bereits bei verschiedenen Mäuseinzuchtstämmen im Rahmen nicht näher definierter oder als primäre hereditäre Formen angesehener generalisierter Amyloidosen beschrieben (Thung, 1957; Deringer, 1965; West und Murphy, 1965). Histologisch handelte es sich um interstitielle, vorwiegend pericapilläre Infiltrate mit den für den Amyloidnachweis charakteristischen histochemischen Kriterien (s. Missmahl, 1966).

In einer ersten Mitteilung über die Häufigkeit der spontanen Amyloidose verschiedener Mäuseinzuchtstämme (Zschiesche, 1970) wurde auf das Vorkommen

* Herrn Prof. Dr. E. Letterer in Verehrung zum 75. Geburtstag gewidmet.

von isoliertem Hodenamyloid bei den Stämmen CE/J Han Jena und AB/Jena hingewiesen. Die vorliegende Arbeit berichtet über entsprechende histologische, histochemische und elektronenmikroskopische Befunde und unternimmt im Vergleich zur Klassifikation der humanen Amyloidosen (Heller u. a., 1964a) den Versuch einer pathogenetischen Einordnung.

Material und Methodik

Tiermaterial. Die Untersuchungen wurden an spontan gestorbenen oder aus Altersgründen abgetöteten Zuchtböckchen der konventionellen Inzuchtstämme CE/J Han Jena (78 ♂♂) und AB/Jena (23 ♂♂) durchgeführt. Ihre Haltung erfolgte permanent monogam (Inzucht) bzw. im Verhältnis 1 ♂ : 4—5 ♀♀ (Vermehrungszucht) in Glas- oder Plastikkäfigen bei einer Raumtemperatur von 22—24° C. Fütterung mit standardisiertem Pellet-Trockenfutter IMET-H (Zusammensetzung s. Zschesche, 1970) und Wasser ad libitum.

Histologie und Histochemie. Vollständige Autopsie und regelmäßige Entnahme von Hoden, Milz, Nieren und Leber, gelegentlich von Herz und Dünndarm. Fixierung in 4 % igem Formalin und Einbettung in Paraffin. Routinefärbungen: HE, Azan, Elastica—van Gieson, Versilberung nach Gomori. Spezielle Amyloidfärbungen und histochemische Methoden: alkalische Kongorot-Färbung nach Puchtler u. a. (1962), p-Dimethylaminobenzaldehyd-Nitrit-Reaktion nach Adams (1957), gekoppelte Tetrazoniumreaktion mit tetrazotiertem Benzidin oder Fast blue salt B (s. Pearse, 1960), Bromphenolblau-Reaktion (s. Pearse, 1960), DDD-Reaktion zur Darstellung von SH- und SS-Gruppen (s. Pearse, 1960), Gentianaviolett-Färbung zur Prüfung auf Allochromasie, Thioflavin T-Färbung nach Vassar u. a. (1959), Thioflavin S-Färbung nach Schwartz u. a. (1965), PAS-Reaktion mit Acetylierung und Verseifung (s. Pearse, 1960), Eisenhydroxydsol-Reaktion in der Modifikation nach Graumann und Clauss (1958), Alcianblau-Reaktion nach Stedman (s. Pearse, 1960), Sudan black-Färbung an Paraffinschnitten (s. Pearse, 1960). Untersuchung des Dichroismus und der anomalen grünen Polarisationsfarbe nach Kongorot im Polmi A (VEB Carl Zeiss, Jena), der fluoreszenzoptischen Färbungen im Forschungsmikroskop Zetopan (Reichert, Wien).

Elektronenmikroskopie. Entnahme von Hodengewebe unmittelbar nach Abtötung der Tiere. Fixierung von Blöckchen mit maximaler Kantenlänge von 1 mm in gepufferter 1 % iger Osmiumtetroxydlösung (Millonig, 1961), Blockkontrastierung mit Phosphorwolframsäure und Uranylacetat (Wohlfarth-Bottermann, 1957), Einbettung in Vestopal W. Anfertigung von Ultradünnschnitten (Ultramikrotom Om U2, Reichert, Wien) und Schnittkontrastierung mit Bleicitrat (Reynolds, 1963). Untersuchung in den Elektronenmikroskopen KEM 1/1 bzw. SEM 3 (VEB Fernsehelektronik, Berlin-Oberschöneweide).

Ergebnisse

Häufigkeit des isolierten Hodenamyloids. Die Häufigkeit testiculärer Amyloidablagerungen bei den untersuchten Mäusestämmen ist in Tabelle 1 dargestellt. Sie zeigt besonders bei CE/J Han Jena eine ausgeprägte altersabhängige Zunahme

Tabelle 1. Altersabhängige testiculäre Amyloidrate bei CE/J Han Jena und AB/Jena
(positive Tiere/Zahl der untersuchten Tiere)

Alter (Monate)	CE	AB
< 8	2/45	0/4
9—12	0/5	0/4
13—16	4/17	5/8
17—20	6/7	1/5
> 21	3/4	1/2

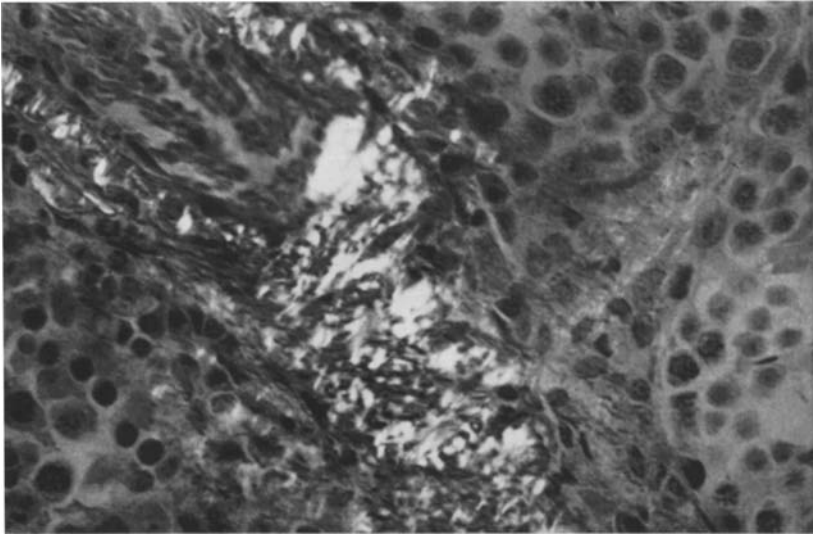


Abb. 1. Mediale und adventitielle Amyloidablagerungen in einer septalen Hodenarterie. Polarisationsoptische Aufnahme nach Kongorotfärbung. Vergr. 480:1

nach dem 13. Lebensmonat. In keinem positiven Fall konnten polarisationsoptisch Amyloidablagerungen in den anderen untersuchten Organen nachgewiesen werden.

Histologische Befunde. Die frühesten histologischen Befunde sind in den septalen Arterien und Arteriolen nachweisbar. Die Amyloidablagerungen beginnen in Adventitia und Media (Abb. 1) und führen zu einer fortschreitenden Dissoziation der Muskelbündel. Nach Kongorot-Färbung findet sich eine, auf die Circumferenz der Gefäße bezogen, positive Anisotropie entsprechend einer muskelfaserparallelen Anordnung der Amyloidfibrillen. In späteren Stadien tritt eine stärkere subendotheliale Ablagerung mit Durchsetzung und Frakturierung der Laminae elasticae internae hinzu. Daneben ist eine progrediente Amyloidinfiltration des perivaskulären und septalen Bindegewebes nachweisbar, das terminal nur noch wenige spindelförmige Fibroblasten enthält. Die Venen und Venolen zeigen später einsetzende und insgesamt geringere Amyloidablagerungen. Dagegen findet sich eine relativ frühzeitige und parallel zu den Veränderungen der Arterien und Arteriolen zunehmende pericapilläre Amyloidose mit Infiltration des interlobulären Bindegewebes.

Die interstitiellen Amyloidplaques treten bis an die breite, PAS-positive und argyrophile Tunica propria der Tubuli contorti heran. Gelegentlich kommt es zu ihrer Infiltration mit fibrillärer Aufsplitterung und Verlust von PAS-Reaktivität und Argyrophilie. Die Sertolischen Stützzellen sind an diesen Stellen stark abgeflacht, die Zellen der Spermiogenese atrophisch oder vollkommen geschwunden. Gelegentlich treten spermiogene Riesenzellen auf. Bei hochgradiger Amyloidablagerung ist die Spermiogenese insgesamt reduziert, bei geringerer Infiltration

entspricht sie unter Berücksichtigung des Alters der amyloidfreien Tiere. Die Leydigischen Zwischenzellen liegen haufenförmig im interlobulären Bindegewebe und zeigen unabhängig vom Grad der Amyloidose eine mit dem Alter der Tiere zunehmende Hyperplasie. Ihr Cytoplasma ist in diesen Fällen wabenförmig aufgelockert und enthält verstärkt bräunliches Lipopigment. Eine topologische Beziehung zwischen Leydigischen Zwischenzellen und Beginn der Amyloidablagerungen fehlt. Die Tunica albuginea ist mit zunehmendem Alter verdickt und zeigt herdförmige Amyloideinlagerungen, die meist mit Amyloiddepots des subcapsulären Bindegewebes in Verbindung stehen.

Histochemische Befunde. Die färberischen und histochemischen Befunde am Amyloid und den Leydigischen Zwischenzellen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Das Amyloid erfüllt mit dem Nachweis des Dichroismus und der anomalen grünen Polarisationsfarbe nach Kongorot die geforderten diagnostischen Kriterien. Auch die fluoreszenzoptischen Thioflavin-Färbungen fallen positiv aus. Dagegen fehlt eine Allochromasie mit Triphenylmethanfarbstoffen. Der für Amyloid charakteristische Tryptophannachweis mittels der DMBA-Reaktion ist schwächer als beim experimentellen Amyloid der Maus. Die übrigen Protein- und Polysaccharidreaktionen verhalten sich mit Ausnahme der Eisenhydroxydsol-Reaktion gleichartig. SH- oder SS-Gruppen sowie Lipide sind nicht nachweisbar.

Tabelle 2. Färbungs- bzw. histochemische Reaktionsergebnisse am Hodenamyloid und Cytoplasma der Leydigischen Zwischenzellen. (— = negativ, + = schwach positiv, ++ = mäßig stark positiv, +++ = stark positiv)

Färbung bzw. Reaktion	Amyloid	Zwischenzellen
Kongorot Hellfeld	+	—
Dichroismus	positiv	—
Anomale grüne Polarisationsfarbe	+	—
Gentianaviolett (Allochromasie)	—	+
Thioflavin T	++	—
Thioflavin S	+++	—
DMBA	— bis +	(+)
Bromphenolblau	+	(+)
Tetrazonium, gek.	(+)	—
DDD	—	—
DDD nach Reduktion	—	—
PAS	(+)	+++
PAS nach Acetylierung	—	—
PAS nach Acetylierung und Verseifung	+	+++
Eisenhydroxydsol	+ bis ++	++ bis +++
Sudan black	—	+++

Die Leydigischen Zwischenzellen enthalten ein typisches Lipopigment von bräunlicher Eigenfarbe, das nach den histochemischen Ergebnissen dem Ceroid nahesteht dürfte (s. Clara, 1965).

Elektronenmikroskopische Befunde. Das Hodenamyloid besteht aus typischen, 80—100 Å dicken Fibrillen, die als lockere Bündel oder knäueförmig in eine

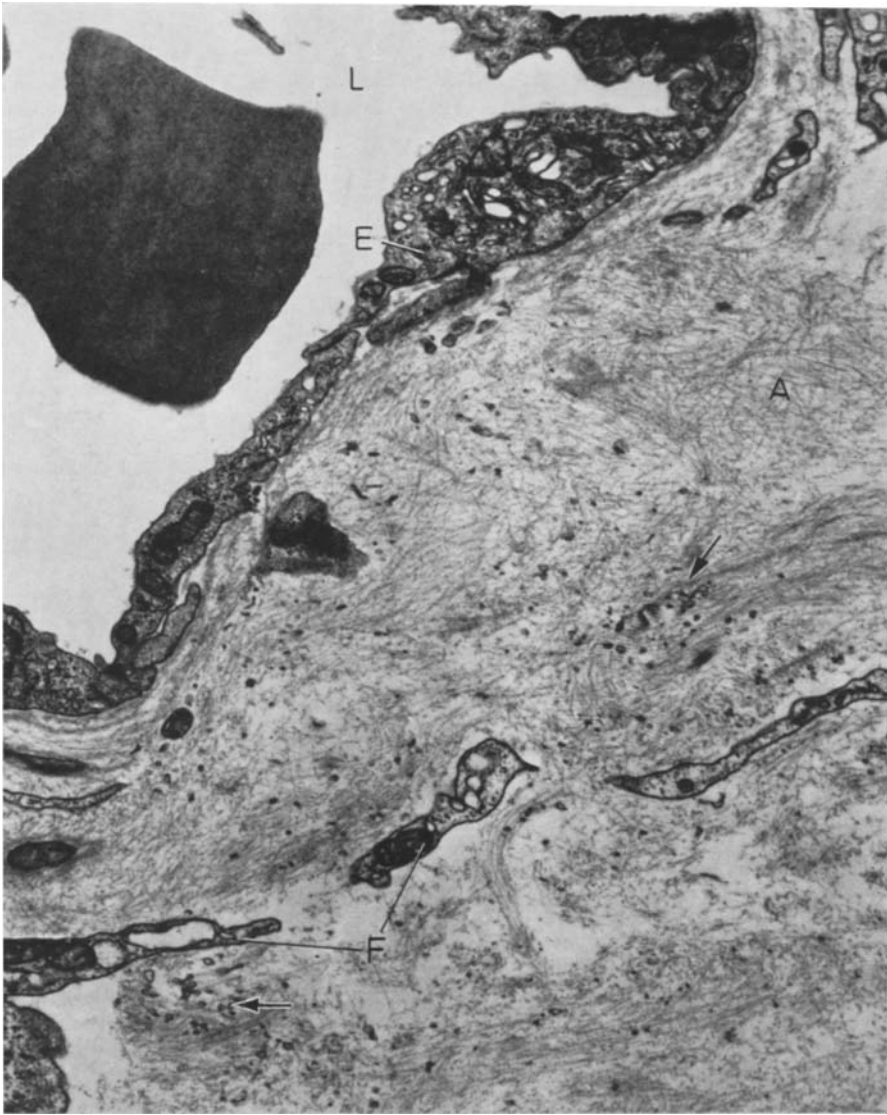


Abb. 2. Interstitielles pericapilläres Hodenamyloid (*A*). Komprimierte und teilweise vacuolierte Fibroblastenausläufer (*F*) sowie Zellreste in Form kleiner Lipidtropfen und membranbegrenzter Bläschen (↗) im Amyloid. *L* Capillarlumen, *E* Endothel. Aufn.-Nr. 9106, Vergr. 18000:1

amorphe Grundsubstanz eingebettet sind. Sie lassen sich im Vergleich zum experimentellen Leber- oder Milzamyloid schlechter durch Bleisalze kontrastieren. Die Grundsubstanz enthält komprimierte Zellausläufer, kleine Lipidtropfen (bis $0,1 \mu$ Durchmesser) und membranbegrenzte Bläschen mit wechselnd elektronendichtem Inhalt (Abb. 2), aber ebenfalls in geringerem Maße als experimentelles

Amyloid (s. Fritsch, 1967). Die Amyloidablagerung beginnt in Übereinstimmung mit den lichtoptischen Befunden in der Adventitia und Media interstitieller Arteriolen und pericapillär (Abb. 2). Erst bei fortgeschrittener Ausbreitung finden sich in Arteriolen, Capillaren und geringer auch in Venolen subendotheliale Amyloiddepots, die zu Aufsplitterung und Schwund der Basalmembranen führen können. Gleichzeitig beziehen die adventitiellen Amyloidlager das lockere interstitielle Bindegewebe ein und sind um die Leydigischen Zwischenzellen (Abb. 3) und in unterschiedlicher Ausdehnung in der Tunica propria der Tubuli contorti nachweisbar.

Die Tunica propria der Hodenkanälchen besteht aus je 2 acellulären und cellulären Schichten (s. auch Clermont, 1958, 1960; Lacy und Rotblat, 1960; Gardner und Holyoke, 1964):

1. Innere acelluläre Lamelle: Sie besteht aus einer inneren tubulären und äußeren Basalmembran, die eine kollagene Faserlage umschneiden, zwischen den Faserbündeln jedoch miteinander verschmelzen können.

2. Interlamelläre Zellen: Sie enthalten wechselnd stark ausgebildete Fibrillen im Ektoplasma bei juxtanucleärer Position der übrigen Cytoplasmaorganellen. Nach ihrem Feinbau und ihrer Lage zwischen den Basalmembranen der inneren und äußeren acellulären Lamelle sind sie ähnlich den Mesangiumzellen der Niere (Yamada, 1955; Huhn u.a., 1962) als modifizierte glatte Muskelzellen anzusprechen, die vermutlich die Spermienausschüttung aus den Tubuli contorti regulieren (Lacy und Rotblat, 1960).

3. Äußere acelluläre Lamelle: Sie besteht aus einer inneren Basalmembran und äußeren kollagenen Faserschicht.

4. Stark abgeflachte Fibroblasten.

Amyloid wird zunächst um die kollagenen Fasern der äußeren acellulären Lamelle abgelagert (Abb. 4), findet sich aber später in allen Schichten bis an die tubuläre Basalmembran der inneren acellulären Lamelle (Abb. 5). Die verschiedenen Basalmembranen werden dadurch girlandenartig deformiert, stellenweise mehrschichtig dissoziiert und gehen an ihrer Oberfläche aufgefaserter in die Fibrillenstruktur des Amyloids über (Abb. 3—5). Innerhalb der tubulären Basalmembran wurde kein Amyloid beobachtet. Die interlamellären Zellen enthalten häufig Lipidtropfen und elektronendichte Lysosomen (Abb. 4). Ihre Zellmembranen sind durch scheinbar senkrecht einstrahlende Amyloidfibrillenbündel stellenweise verwaschen (Abb. 3 und 5), wie beim experimentellen Amyloid anderer Organe bereits beschrieben (Heefner und Sorenson, 1962; Thiery und Caroli, 1962; Caesar, 1966; Shirahama und Cohen, 1968). Die Sertolischen Stützzellen sind an Stellen mit starker Amyloidose der Tunica propria abgeflacht und zeigen ein vesiculär dilatiertes endoplasmatisches Reticulum (ER), vacuolisierte Mitochondrien mit aufgetriebenen Cristae (Abb. 5), große Lipidtropfen sowie vermehrt Lysosomen mit granulärem bis globulärem elektronendichtem Material (Abb. 4), Membrananteilen und sog. Myelinfiguren. Spermio gonien fehlen hier.

Neben normalen Leydigischen Zellen mit typischen Mitochondrien und stark ausgebildetem agranulären ER (s. Christensen und Fawcett, 1966) finden sich durch interstitielle Amyloidablagerungen komprimierte, sternförmige Zwischenzellen mit vesiculär dilatiertem ER und vacuolisierten Mitochondrien (Abb. 3). Alle Zwischenzellen enthalten vermehrt Lipidtropfen und 1—3 μ große Pigmentgranula mit wolkig elektronendichtem Inhalt. In den Lysosomen interstitieller Makrophagen wurden gelegentlich Fibrillen von 80—100 Å Durchmesser, offenbar phagozytiertes Amyloid, beobachtet.

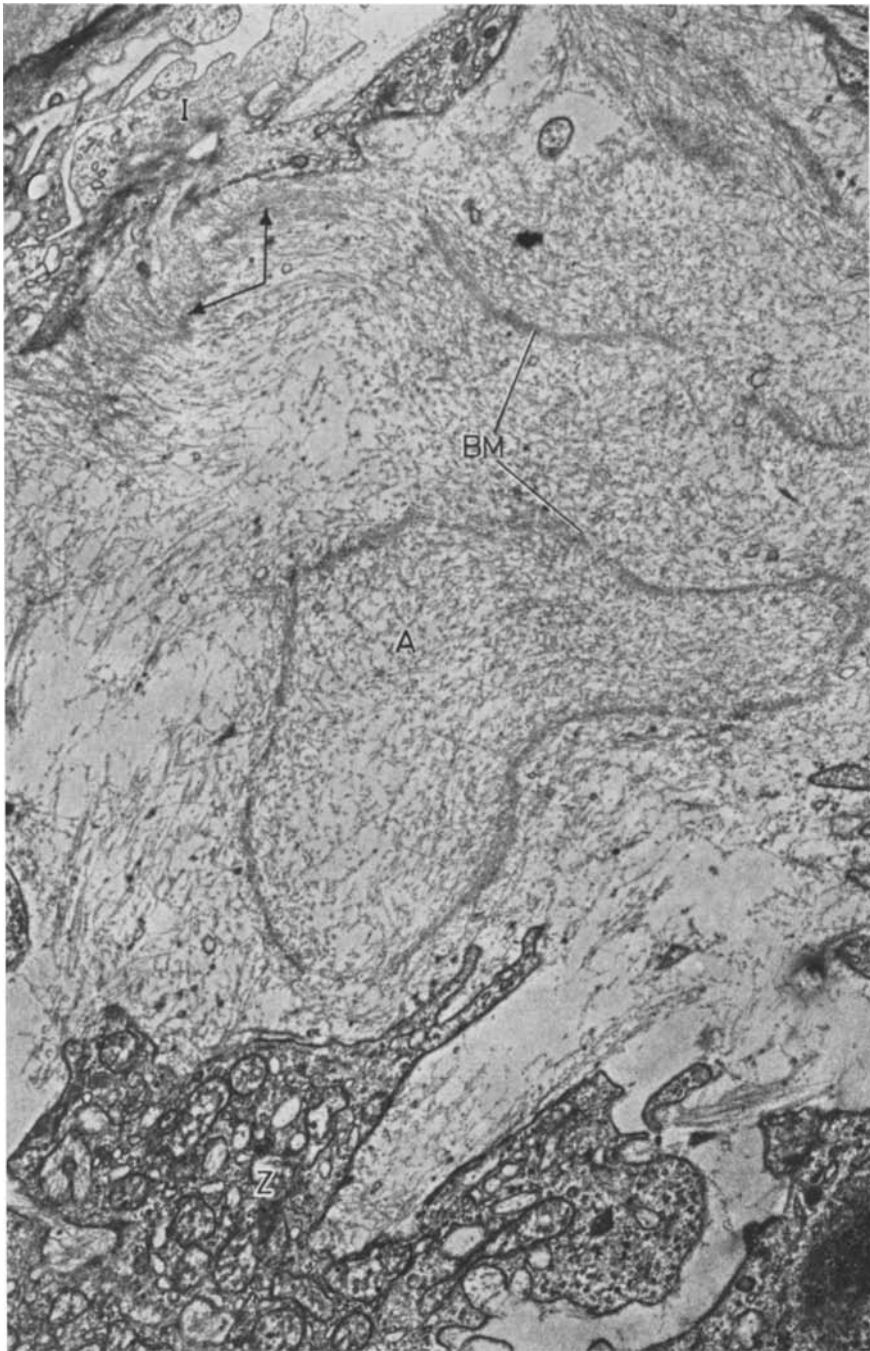


Abb. 3. Interstitielles Hodenamyloid (A) mit sternförmig komprimierter Leydigscher Zwischenzelle (Z) und Flachschnitten durch die Tunica propria eines Hodenkanälchens mit girlandenförmig deformierten Basalmembranen (BM). Aufsplitterung der Basalmembran (↗) und unscharfe Begrenzung der Cytoplasmamembran einer anliegenden interlamellären Zelle (I) durch dichte Amyloidbündel. Aufn.-Nr. 3131, Vergr. 18000:1

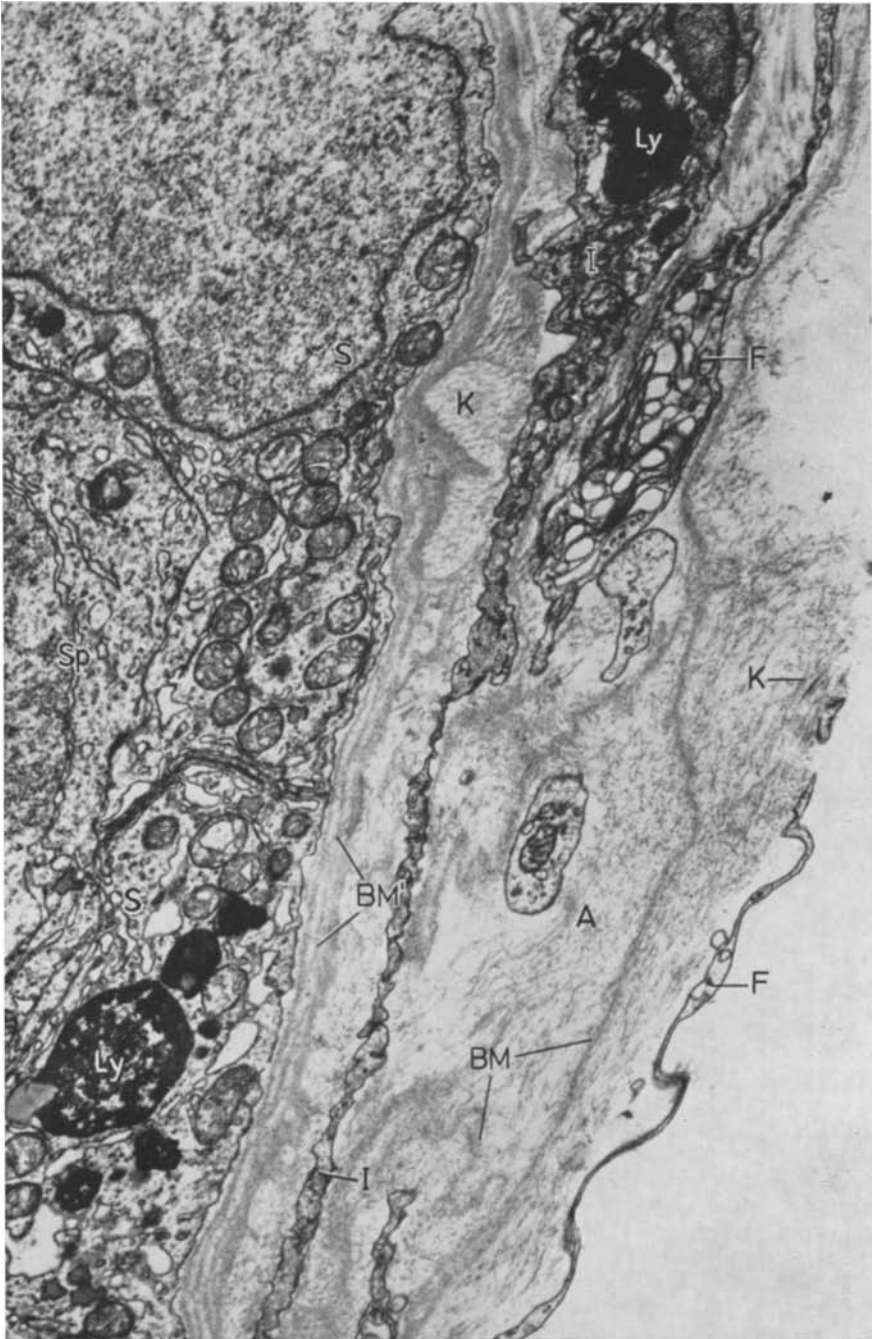


Abb. 4. Beginnende Amyloidose (A) in der äußeren Tunica propria eines Hodenkanälchens. Girlandenartig deformierte Basalmembran (BM) der äußeren Lamelle, lamellierte tubuläre Basalmembran (BM'). Interlamelläre Zelle (I) mit Lysosomen (Ly). Sertolische Stützzellen (S), z.T. mit phagozytiertem Material in Lysosomen (Ly). F Fibroblasten, K kollagene Fasern, Sp Spermiogonie. Aufn.-Nr. 9091, Vergr. 18000:1

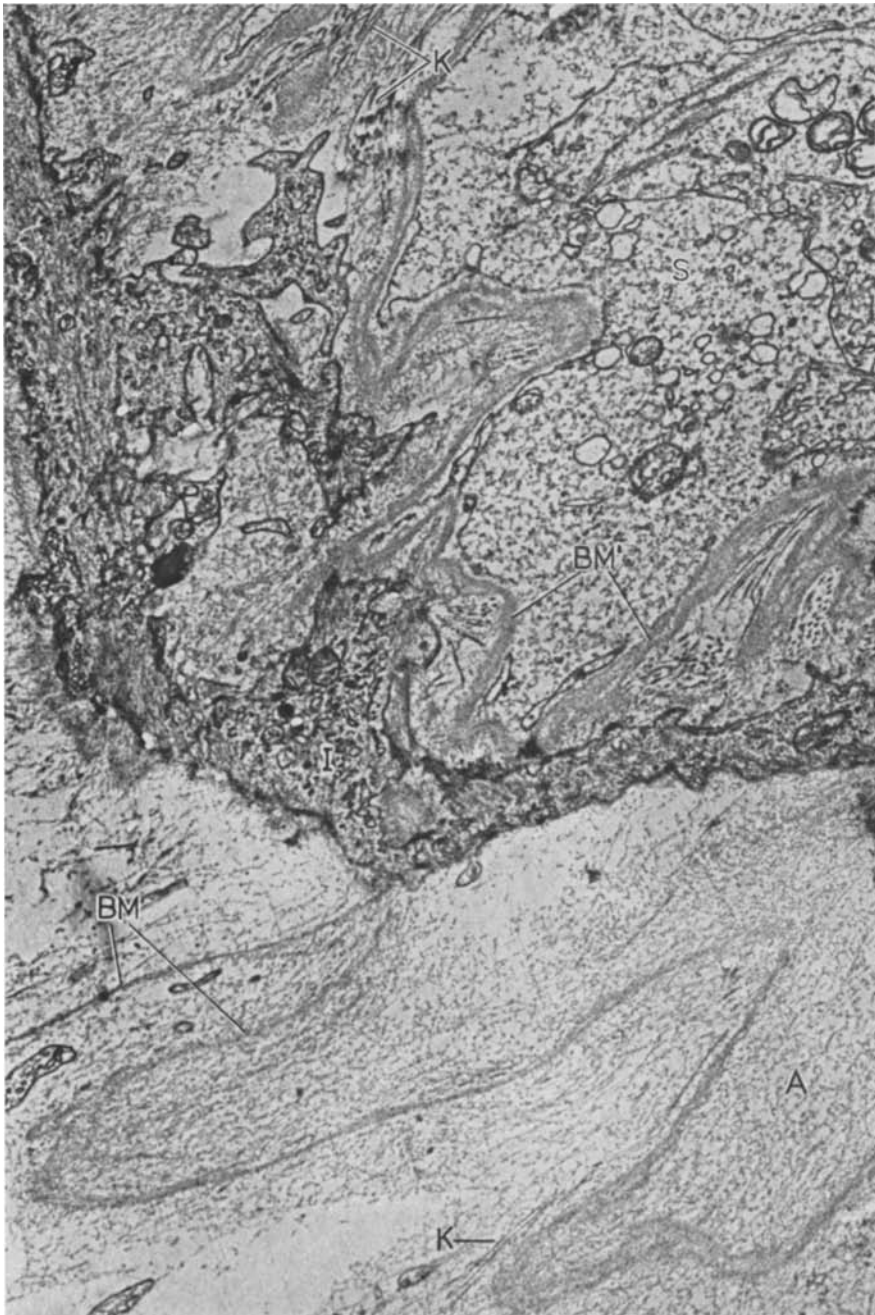


Abb. 5. Fortgeschrittene Hodenamyloidose (*A*) mit Infiltration aller Schichten der Tunica propria bis an die tubuläre Basalmembran (*BM'*). Schwund der Spermiogonien. *BM* Basalmembran der äußeren Lamelle, *I* interlamelläre Zellen, *K* kollagene Fasern, *S* Sertolische Stützzellen mit regressiven Veränderungen. Aufn.-Nr. 3134, Vergr. 28000:1

Besprechung

Die isolierte Hodenamyloidose der Mäusestämme CE/J Han Jena und AB/Jena beginnt adventitiell und pericapillär und breitet sich progredient auf das septale und interlobuläre Bindegewebe aus. Erst in fortgeschrittenen Fällen ist eine subendotheliale Ablagerung nachweisbar. Die Befunde entsprechen demnach einer typischen perikollagenen Amyloidose (Missmahl und Gafni, 1964; Heller u.a., 1964b; Missmahl, 1968). Die Einbeziehung der Tunica propria der Tubuli contorti führt zu einer lokalen Schädigung des Samenepithels. Spermien, Spermatiden und Spermiogonien nehmen in der genannten Reihenfolge an Zahl ab. Die Sertolischen Stützzellen sind abgeflacht, zeigen jedoch Zeichen starker Phagozytoseaktivität mit Vermehrung der Lysosomen und intralysosomalen Materials wie Membrananteilen und sog. Myelinfiguren, offensichtlich als Folge einer Resorption von Samenzellen (Reddy und Svoboda, 1967).

Die regressiven Veränderungen des Samenepithels dürften auf einer erschwerten Stoffdiffusion durch die amyloidverdickte Tunica propria mit konsekutiver, nutritiv bedingter Atrophie der Spermiogonien sowie der für die Ernährung und Reifung der Spermatiden und Spermien verantwortlichen Stützzellen beruhen. Es ist zunächst fraglich, ob auch eine hypoxische Schädigung vorliegt. Nach klinischen Beobachtungen ist der Sauerstofftransport durch pericapilläre Amyloidlager, z.B. bei der diffusen alveolären Lungenamyloidose (Uehlinger, 1965), nicht wesentlich gestört. Ein möglicher Einfluß der interstitiellen Amyloidablagerungen auf die Funktion der Leydigischen Zwischenzellen kann auf Grund der morphologischen Befunde nicht beurteilt werden. Histologisch ist eine altersgebundene, amyloid-unabhängige Hyperplasie und Vermehrung cytoplasmatischer Lipopigmente nachweisbar. Der elektronenmikroskopische Nachweis sternförmig atrophischer Zwischenzellen läßt jedoch ebenfalls diskrete regressive Veränderungen annehmen.

Die eigenen elektronenoptischen Befunde entsprechen bis auf die relativ lockere Fibrillentextur mit einem erhöhten Anteil amorpher Zwischensubstanz den bekannten Literaturangaben zur Feinstruktur des Amyloids im Schnittpreparat (s. Caesar, 1966). Die histochemischen Ergebnisse weichen quantitativ von denen am experimentellen und humanen Amyloid verschiedener Herkunft ab (Arvy, 1959; Braunstein und Buerger, 1959; Gössner, 1961; Zschesche, 1965; Christensen, 1968). Die Polysaccharid- und Proteinreaktionen fallen mit Ausnahme der Eisenhydroxydsol-Reaktion durchgehend schwächer aus. Diese Befunde lassen in Übereinstimmung mit den elektronenmikroskopischen Ergebnissen eine starke Maskierung der Fibrillen durch die Zwischensubstanz vermuten, ohne daß deren Charakterisierung eindeutig möglich ist. Der Nachweis der kolloidalen Eisenbindung deutet auf das Vorliegen saurer Mucopolysaccharide hin.

Folgende Befunde lassen synoptisch eine senile Amyloidose analog zur Klassifikation der humanen Amyloidosen annehmen:

1. Die Altersverteilung,
2. die Topologie mit isolierter Amyloidablagerung im Hoden,
3. der perikollagene Ablagerungstyp.

Obwohl die überwiegende Zahl der tierischen Amyloidosen ohne nachweisbare Grunderkrankung der senilen Form zugerechnet wird (Walford und Lee, 1966); existieren nur wenige entsprechende Untersuchungen. Sicherer Altersamyloid ist beim Hund in der Wand der Hirn- und Coronargefäße (Dahme, 1965; Dahme und Deutschländer, 1967) und beim Pavian als generalisierte Ablagerung beschrieben worden (Gillman und Gilbert, 1955). Im Hinblick auf die zunehmende Notwendigkeit einer medikamentösen Therapie der verschiedenen, vor allem sog.

primären humanen Amyloidformen ist die Entwicklung entsprechender tierischer Modelle für experimentelle Untersuchungen von Bedeutung (Zschesche, 1969). Die isolierte testiculäre Amyloidose der Maus als des rationellsten Laboratoriumstieres stellt in diesem Zusammenhang ein brauchbares Äquivalent der menschlichen Altersamyloidosen dar.

Herrn Dr. H. Heinecke, Leiter der Arbeitsgruppe Tierzucht des Zentralinstitutes, danken wir für die Überlassung der Versuchstiere, Fräulein Ch. Roesch und Herrn H.-G. Hoppe für sorgfältige technische Assistenz.

Literatur

- Adams, C. W.: A p-dimethylaminobenzaldehyde-nitrite method for the histochemical demonstration of tryptophane and related compounds. *J. clin. Path.* **10**, 56—62 (1957).
- Arvy, L., Sors, Ch.: Etude histochemique de la substance amyloïde. *Acta histochem.* (Jena) **6**, 77—92 (1959).
- Braunstein, H., Buerger, L.: A study of the histochemical and staining characteristics of amyloid. *Amer. J. Path.* **35**, 791—800 (1959).
- Caesar, R.: Elektronenmikroskopische Befunde am Amyloid. *Nova Acta Leopoldina*, N. F. **31**, Nr. 175, 87—97 (1966).
- Christensen, A. K., Fawcett, D. W.: The fine structure of testicular interstitial cells in mice. *Amer. J. Anat.* **118**, 551—571 (1966).
- Christensen, H. E.: Improved histochemical staining techniques for mucopolysaccharides applied to experimental and human amyloids. In: *Amyloidosis*, ed. by E. Mandema, L. Ruinen, J. H. Scholten and A. S. Cohen, p. 235—242. Amsterdam: Excerpta Medica Foundation 1968.
- Clara, M.: Methoden der Lipidhistochemie. In: *Handbuch der Histochemie*, Bd. V/1, S. 54—373. Hrsg. von W. Graumann und K. Neumann. Stuttgart: G. Fischer 1965.
- Clermont, Y.: Contractile elements in the limiting membrane of the seminiferous tubules of the rat. *Exp. Cell Res.* **15**, 438—440 (1958).
- The fine structure of the limiting membrane of the seminiferous tubule in the rat. In: *Verh. 4. Intern. Kongr. Elektronenmikroskopie*, S. 426. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
- Dahme, E.: Zur Begriffsbestimmung von Hyalin und Amyloid im Hinblick auf die kongophilen Gewebsveränderungen des alternden Organismus. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **107**, 92 (1965).
- Deutschländer, N.: Zur Frage des primären Amyloids in Meninx- und Hirnrindengefäßen beim Hund. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* **74**, 134—138 (1967).
- Deringer, M. K.: Amyloidosis in strain BL/LyDe mice. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **119**, 94—96 (1965).
- Fritsch, S.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Eisenhydroxydsolreaktion. *Morph. Jb.* **111**, 469—474 (1967).
- Gardner, P. J., Holyoke, E. A.: Fine structure of the seminiferous tubule of Swiss mice. I. The limiting membrane, Sertoli cell, spermatogonia and spermatocytes. *Anat. Rec.* **150**, 391—404 (1964).
- Gillman, J., Gilbert, C.: Primary amyloidosis in the baboon. *Acta med. scand., Suppl.* **306**, 155—189 (1955).
- Gößner, W.: Vergleichende histochemische Untersuchungen über die Proteinkomponente von Amyloid, Hyalin und Kollagen. *Histochemie* **2**, 199—216 (1961).
- Graumann, W., Clauss, W.: Weitere Untersuchungen zur Spezifität der histochemischen Polysaccharid-Eisenreaktion. *Acta histochem. (Jena)* **6**, 1—7 (1958).
- Heefner, W. A., Sorenson, G. D.: Experimental amyloidosis. I. Light and electron microscopic observations of spleen and lymph nodes. *Lab. Invest.* **11**, 585—593 (1962).
- Heller, H., Sohar, E., Gafni, J.: Classification of amyloidosis with special regard to the genetic types. *Path. Microbiol.* **27**, 833—840 (1964).
- H.-P. Missmahl, Sohar, E., Gafni, J.: Amyloidosis: Its differentiation into peri-reticulin and peri-collagen types. *J. Path. Bact.* **88**, 15—34 (1964).
- Huhn, D., Steiner, J. W., Movat, H. Z.: Die Feinstruktur des Mesangiums im Nierenglomerulum von Hund und Maus. *Z. Zellforsch.* **56**, 213—230 (1962).

- Lacy, D., Rotblat, J.: Study of normal and irradiated boundary tissue of the seminiferous tubules of the rat. *Exp. Cell Res.* **21**, 49—70 (1960).
- Millonig, G.: Advantages of a phosphate buffer for OsO_4 solutions in fixation. *J. appl. Physics* **32**, 1637 (1961).
- Missmahl, H.-P.: Polarisationsoptische Befunde am Amyloid. *Nova Acta Leopoldina*, N. F. **31**, Nr. 175, 79—85 (1966).
- Reticulin and collagen as important factors for the localization of amyloid. The use of polarization microscopy as a tool in the detection of the composition of amyloid. In: *Amyloidosis*, ed. by E. Mandema, L. Ruinen, J. H. Scholten and A. S. Cohen, p. 22—29. Amsterdam: Excerpta Medica Foundation 1968.
- Gafni, J.: Peri-collagen and peri-reticular amyloidoses. Their differentiation by polarization microscopy. *Path. Microbiol.* **27**, 826—832 (1964).
- Pearse, A. G. E.: *Histochemistry. Theoretical and applied*, 2nd ed. London: J. & A. Churchill Ltd. 1960.
- Puchtler, H., Sweat, F., Levine, M.: On the binding of Congo red by amyloid. *J. Histochem. Cytochem.* **10**, 355—364 (1962).
- Reddy, K. J., Svoboda, D. J.: Lysosomal activity in Sertoli cells of normal and degenerating seminiferous epithelium of the rat testes. An ultrastructural and biochemical study. *Amer. J. Path.* **51**, 1—17 (1967).
- Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208—211 (1963).
- Schwartz, P., Kurucz, J., Kurucz, A.: Fluorescence microscopy demonstration of cerebrovascular and pancreatic insular amyloid in presenile and senile states. *J. Amer. Geriatr. Soc.* **13**, 199—205 (1965).
- Shirahama, T., Cohen, A. S.: Ultrastructural studies on renal peritubular amyloid experimentally induced in guinea pigs. I. General aspects. *Lab. Invest.* **19**, 122—131 (1968).
- Thiery, J. P., Caroli, J.: Etude comparative en microscopie électronique de l'amylose hépatique primaire humaine et de l'amylose expérimentale de la souris. *Rev. int. Hépat.* **12**, 207—251 (1962).
- Thung, P. J.: Senile amyloidosis in mice. *Gerontologia (Basel)* **1**, 259—279 (1957).
- Uehlinger, E.: Mikrolithiasis, Amyloidose und Proteinose der Lungen. *Beitr. Klin. Tuberk.* **132**, 130—147 (1965).
- Vassar, P. S., Culling, C. F. A., Taylor, H. E.: A fluorescent staining method for demonstrating amyloid. *Amer. J. Path.* **35**, 718 (1959).
- Walford, R. L., Lee, S.: Amyloidosis and the aging process. In: *Immunopathology*, 4th Intern. Symp. Ed. by P. Grabar and P. A. Miescher, p. 294—302. Basel-Stuttgart: Schwabe & Co. 1966.
- West, W. T., Murphy, E. D.: Sequence of deposition of amyloid in strain A mice and relationship to renal disease. *J. nat. Cancer Inst.* **35**, 167—174 (1965).
- Wohlfarth-Bottermann, K. E.: Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. *Naturwissenschaften* **44**, 287—288 (1957).
- Yamada, E.: The fine structure of the renal glomerulus of the mouse. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 551—566 (1955).
- Zschiesche, W.: Ölinduzierte Amyloidose bei Cancerogenversuchen mit Cholesterinderivaten. *Path. Microbiol.* **28**, 393—398 (1965).
- Experimentelle Grundlagen einer Therapie der Amyloidosen. *Klin. Wschr.* **47**, 1241—1247 (1969).
- Die spontane Amyloidose der Maus. I. Die altersabhängige Amyloidrate verschiedener Inzuchtstämme. *Z. Versuchstierk.* **12**, 321—329 (1970).

Dr. med. habil. W. Zschiesche
 Dr. med. habil. S. Fritsch
 Zentralinstitut für Mikrobiologie
 und experimentelle Therapie
 der Deutschen Akademie der Wissenschaften
 DDR-6900 Jena
 Beutenbergstraße 11