

Feinstrukturell-morphometrische Untersuchungen an Leberbiopsien von Patienten mit intrahepatischer Cholestase

I. Korrelation zwischen den morphometrischen Parametern der Gallencapillaren und den serochemischen Cholestasemeßgrößen

A. Roessner, N. van Husen, E. Pauls, U. Gerlach und H. Themann

Lehrstuhl für Medizinische Cytobiologie (Leiter: Prof. Dr. H. Themann)
und Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik (Direktor: Prof. Dr. W. H. Hauss)
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Eingegangen am 25. Februar 1975

Ultrastructural-Morphometric Analysis of Liver Biopsies in Patients with Intrahepatic Cholestasis

I. Correlations between Morphometry of Bile Canaliculi and So-Called "Marker Enzymes of Cholestasis"

Summary. Reports on correlations between the activity of so-called "marker enzymes of cholestasis" in serum and the ultrastructural changes of the liver are rare. Therefore studies of ultrastructural changes were carried out in 40 patients with intrahepatic cholestasis. In the patients' serum the activity of alkaline phosphatase, bile duct alkaline phosphatase, leucine-aminopeptidase (LAP), and 5'-nucleotidase (5'-Nu) as well as the concentration of bilirubin were determined.

The results showed a significant correlation between the morphometry of the bile canaliculi and the serum activity of LAP and 5'-Nu. In patients with elevated LAP, an enlargement of the bile canaliculi could be proved. An increased serum activity of 5'-Nu correlated with a higher incidence of bile canaliculi in the ultrastructural picture.

The results suggest that investigation of the ultrastructure of bile canaliculi and the determination of marker enzymes of cholestasis in the serum may both contribute to the assessment of cholestatic liver disease.

Zusammenfassung. 40 Leberbiopsien von Patienten mit klinisch gesicherter intrahepatischer Cholestase wurden feinstrukturell-morphometrisch ausgewertet. Zusätzlich wurden im Serum der Patienten die Aktivitäten der „Cholestase anzeigenenden Enzyme“ bestimmt und mit den morphometrischen Parametern der Gallencapillaren statistisch korreliert.

Es konnte so nachgewiesen werden, daß zwischen den Serumaktivitäten der Leucinaminopeptidase und der 5'-Nucleotidase einerseits und der Morphologie der Gallencapillaren andererseits statistisch gesicherte Korrelationen bestehen. Bei einer Erhöhung der Serumaktivität der Leucinaminopeptidase fand sich eine signifikante Erweiterung des Volumens der Gallencapillaren, bei erhöhter 5'-Nucleotidase im Serum war dagegen die Anzahl der Gallencapillarenanschnitte im elektronenmikroskopischen Bild signifikant erhöht. Auch bei vermehrter Gallengangsphosphatase war das Volumen der Gallencapillaren vergrößert, diese Korrelation konnte jedoch statistisch nicht gesichert werden. Für die alkalische Gesamtphosphatase und das Gesamtbilirubin ließen sich in den untersuchten Fällen keine Beziehungen zur Morphologie der Gallencapillaren nachweisen.

Die erhobenen Befunde zeigen, daß bei intrahepatischer Cholestase der feinstrukturelle Leberbefund und das Enzymmuster der Cholestaseenzyme im Serum miteinander in Beziehung stehen und sich bei der Beurteilung des Krankheitsbildes ergänzen.

Einleitung

Das elektronenmikroskopische Bild von Lebern mit extrahepatischer oder intrahepatischer Cholestase zeigt typische Veränderungen an den interzellulären Gallencapillaren. So kommt es besonders zu einer Dilatation des Lumens der Gallencapillaren (Orlandi, 1962; Popper u. Mitarb., 1963; Cossel, 1964; Biava, 1964; Schaffner, 1965; Rouiller, 1965; Steiner u. Mitarb., 1965; Zaki, 1966; Breitfellner u. Mitarb., 1966; Tanikawa, 1968). Neben der Zunahme des Volumens der Gallencapillaren wird auf den Verlust ihres Mikrovillibesatzes hingewiesen. Außerdem werden häufig blasenförmig aufgetriebene Mikrovilli beobachtet (Steiner u. Mitarb., 1961; Kalifat u. Mitarb., 1962; Hübner, 1962; Schaffner, 1962; Steiner u. Mitarb., 1962; Rouiller, 1963; Schaffner u. Mitarb., 1971). Die Anzahl der Anschnitte der Gallencapillaren im elektronenoptischen Bild soll bei Lebern mit Cholestase erhöht sein (Steiner u. Mitarb., 1961; Kalifat u. Mitarb., 1962; Perez u. Mitarb., 1962; Steiner u. Mitarb., 1963; Cossel, 1964; Spycher u. Mitarb., 1964).

Diese vielfach beschriebenen Veränderungen an den Gallencapillaren können als wesentliche morphologische Kriterien einer Cholestase gewertet werden (Desmet, 1973). Klinisch kann eine Aktivitätserhöhung von sog. „Cholestase anzeigenenden Enzymen“ im Serum auf das Vorliegen einer Cholestase hinweisen (Szasz u. Mitarb., 1969; Popper u. Mitarb., 1970).

Wenig ist bisher jedoch darüber bekannt, ob beim Menschen Veränderungen im Aktivitätsmuster dieser Enzyme den feinstrukturell faßbaren Veränderungen entsprechen und ob sich so aus einem pathologischen Enzymmuster im Serum schon Hinweise auf morphologische Alterationen ableiten lassen.

Daher war es Ziel der vorliegenden Untersuchungen, Zusammenhänge zwischen den feinstrukturellen Veränderungen bei cholestaticischen Lebern und den Serumaktivitäten der sogenannten Cholestase anzeigenenden Enzyme zu erfassen. Da eine exakte Korrelation der Feinstruktur mit klinisch-chemischen Daten eine Quantifizierung der morphologischen Befunde voraussetzt, wurden die untersuchten Leberbiopsiezylinder nach der von Weibel u. Mitarb. (1966, 1969), angegebenen Methode feinstrukturell-morphometrisch ausgewertet (Rohr u. Mitarb., 1975; De Wolf-Peeters u. Mitarb. 1974).

Material und Methoden

Patienten

Die Untersuchung wurde durchgeführt an 40 Patienten, bei denen klinisch sowie aufgrund einer Aktivitätserhöhung mindestens der Leberzellphosphatase im Serum eine intrahepatische Cholestase angenommen wurde. Lebergewebe wurde mittels Menghinipunktion gewonnen¹. Die Blutentnahme zur Enzymuntersuchung erfolgte in einem zeitlich kurzen Abstand vor oder nach der Leberpunktion.

Elektronenmikroskopie

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden die Leberpunktate sofort nach der Aspiration in 1,5%igem Glutaraldehyd (0,05 molarer Phosphatpuffer pH 7,4) für die Dauer von 2 Std bei 4° C fixiert, anschließend 24 Std in demselben Puffer ausgewaschen, in 1,33%igem OsO₄ nachfixiert und in Epon 812 eingebettet.

¹ Herrn Prof. Manitz danken wir für die freundliche Durchführung der Gewebsentnahme bei einigen der untersuchten Patienten.

Von jedem Leberpunktat wurden jeweils 5 Gewebeblöckchen nach Zufallskriterien ausgewählt. Von jedem Gewebeblöckchen wurden mit einem Porter-Blum-Mikrotom Ultradünn-schnitte hergestellt. Die Schnitte wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat nachkontrastiert. Von jedem Block wurden mit einem Philips EM 300 Elektronenmikroskop — ausgerüstet mit einer 35 mm Kleinbildkamera — je 8 statistisch orientierte Aufnahmen bei einer konstanten Primärvergrößerung von $2500 \times$ angefertigt. Pro Patient wurden also 40 elektronenmikroskopische Bilder aufgenommen, so daß im ganzen 1600 Bilder ausgewertet wurden.

Die Bilder wurden in einem Projektionsgerät nach Weibel u. Mitarb. (1966) projiziert. Als Maß für das Volumen der Gallencapillaren diente nach der von Weibel u. Mitarb. (1966, 1969) angegebenen Methode die Ermittlung von Trefferpunkten auf den Gallencapillaren. Zur Bestimmung der Oberfläche der Gallencapillaren wurden die Schnittpunkte einer definierten Linienschar mit der Membran der Gallencapillaren gezählt. Daraus ließ sich nach der von Weibel (1963) angegebenen Formel die Oberfläche der Gallencapillaren pro ml Lebergewebe ermitteln. Außerdem wurde die Anzahl der Gallencapillarenanschnitte pro Bild gezählt. Von den jeweils zu einem Patienten gehörenden morphometrischen Daten wurde der Mittelwert gebildet, außerdem die Standardabweichung und der Standardfehler.

Die an dem Untersuchungsgut gewonnenen morphometrischen Parameter der Leberparenchymzellorganellen werden an anderer Stelle mitgeteilt.

Enzymmessungen

Parallel zu den elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde im Serum der Patienten die Aktivität von sogenannten „Cholestase anzeigenenden Enzymen“ gemessen. Im einzelnen wurde die Serumaktivität der alkalischen Gesamtphosphatase (EC 3.1.3.1.), der sogenannten Leucinaminopeptidase (EC 3.4.1.-) sowie der 5'-Nucleotidase (EC 3.1.3.5) bestimmt. Zusätzlich wurden von den Isoenzymen der alkalischen Phosphatase die Leberzellphosphatase und die Gallengangsphosphatase untersucht.

Folgende Methoden fanden dazu Anwendung: Die Enzymaktivität der alkalischen Gesamtphosphatase (AP) wurde bei 37° mit p-Nitrophenylphosphat in einem nicht optimierten Test gemessen (Bessey u. Mitarb., 1964). Die Auftrennung in ihre Isoenzyme erfolgte mikro-elektrophoretisch in Polyacrylamid- und Stärkegel in Anlehnung an Klein (1967). Als Substrat für die Aktivitätsmessung von 5'-Nucleotidase im Serum wurde Adenosin-5'-Monophosphat im Ansatz nach Campbell (1962) benutzt, für die der sog. Leucinaminopeptidase Leucin-p-nitroanilid (Weber, 1969).

Die für die einzelnen Patienten gemessenen Serumaktivitäten dieser Enzyme wurden über den Medianwert in zwei Gruppen geteilt. Den so gebildeten Gruppen wurden die morphometrischen Parameter zugeordnet. Anschließend wurde mit dem *t*-Test nach Student geprüft, ob die für diese beiden Gruppen ermittelten morphometrischen Parameter an den Gallencapillaren signifikante Unterschiede zeigen (Sachs, 1971). Da nicht von allen Patienten alle klinisch-chemischen Daten zur Verfügung standen, betrug die gesamte Anzahl für die Korrelationsanalyse nicht immer 40, war jedoch nie kleiner als 34.

Elektronenmikroskopische Befunde an den Gallencapillaren

Die Gallencapillaren der Lebern mit intrahepatischer Cholestase sind häufig stark dilatiert (Abb. 1 a). In den dilatierten Gallencapillaren findet sich ein feingranuliertes, verhältnismäßig elektronendichtes Material. Die Desmosomen, welche die Gallencapillaren eingrenzen, zeigen eine regelrechte Struktur. Es ist jedoch bemerkenswert, daß der Mikrovilliibesatz der Gallencapillaren oftmals vermindert ist. Häufig werden Mikrovilli beobachtet, die blasenförmig aufgetrieben sind. Die Dilatation der Gallencapillaren kann in einzelnen Fällen ganz erhebliche Ausmaße annehmen. Hin und wieder erreichen die Gallencapillaren einen Durchmesser bis zu $9 \mu\text{m}$ (Abb. 2). In solchen Fällen ist das stark erweiterte Lumen ebenfalls von einer granulären, elektronendichten Substanz gefüllt.

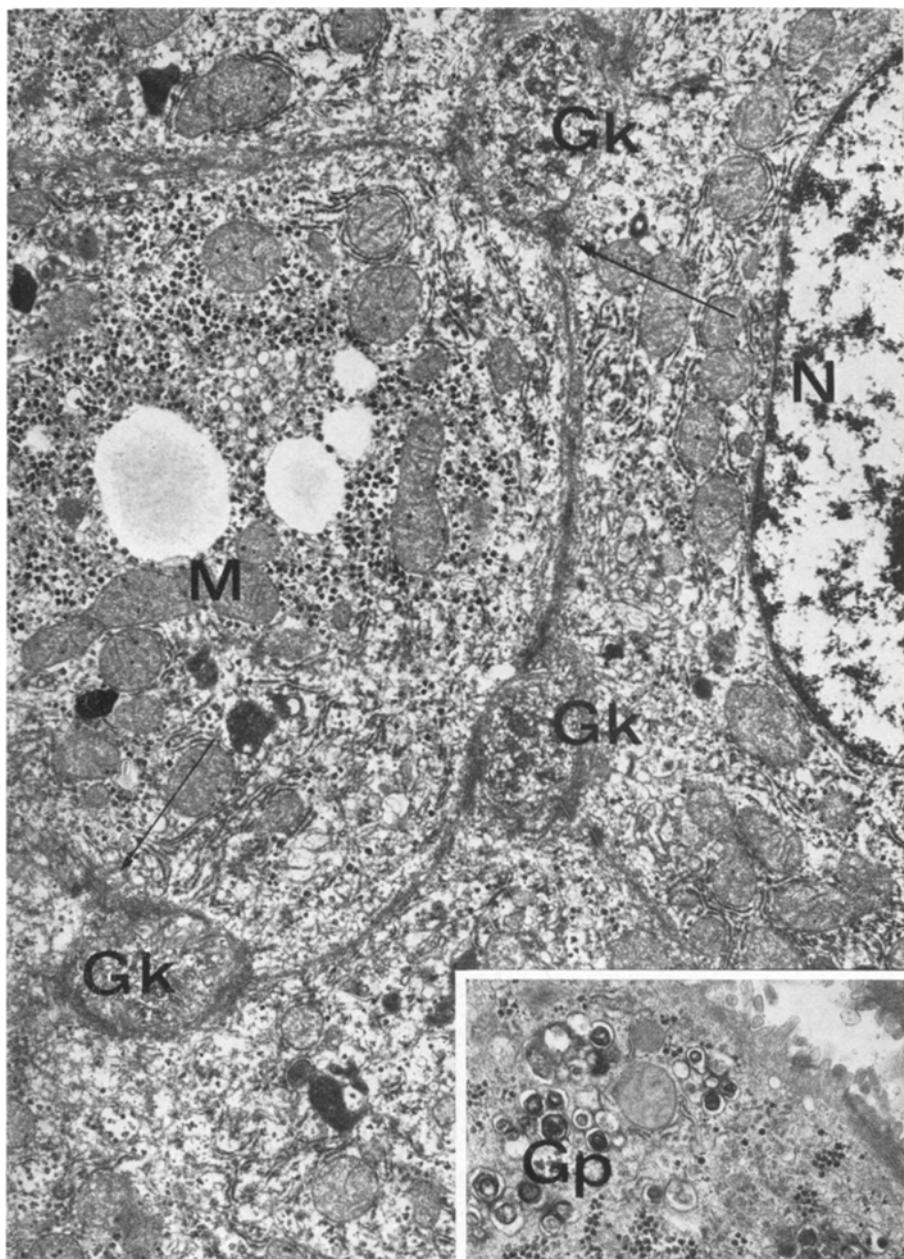


Abb. 1. (a) Elektronenmikroskopische Aufnahme einer Leber bei intrahepatischer Cholestase. Die Gallencapillaren (*Gk*) sind dilatiert. In ihrem Lumen lässt sich eine feingranulierte Substanz nachweisen. Zellkern (*N*); Mitochondrien (*M*); Desmosomen (Pfeil). Vergrößerung: 10400 \times . (b) (Einsatzbild): Konzentrisch geschichtete Ablagerung von Gallepigment (*Gp*) bei intrahepatischer Cholestase. Vergrößerung: 6600 \times

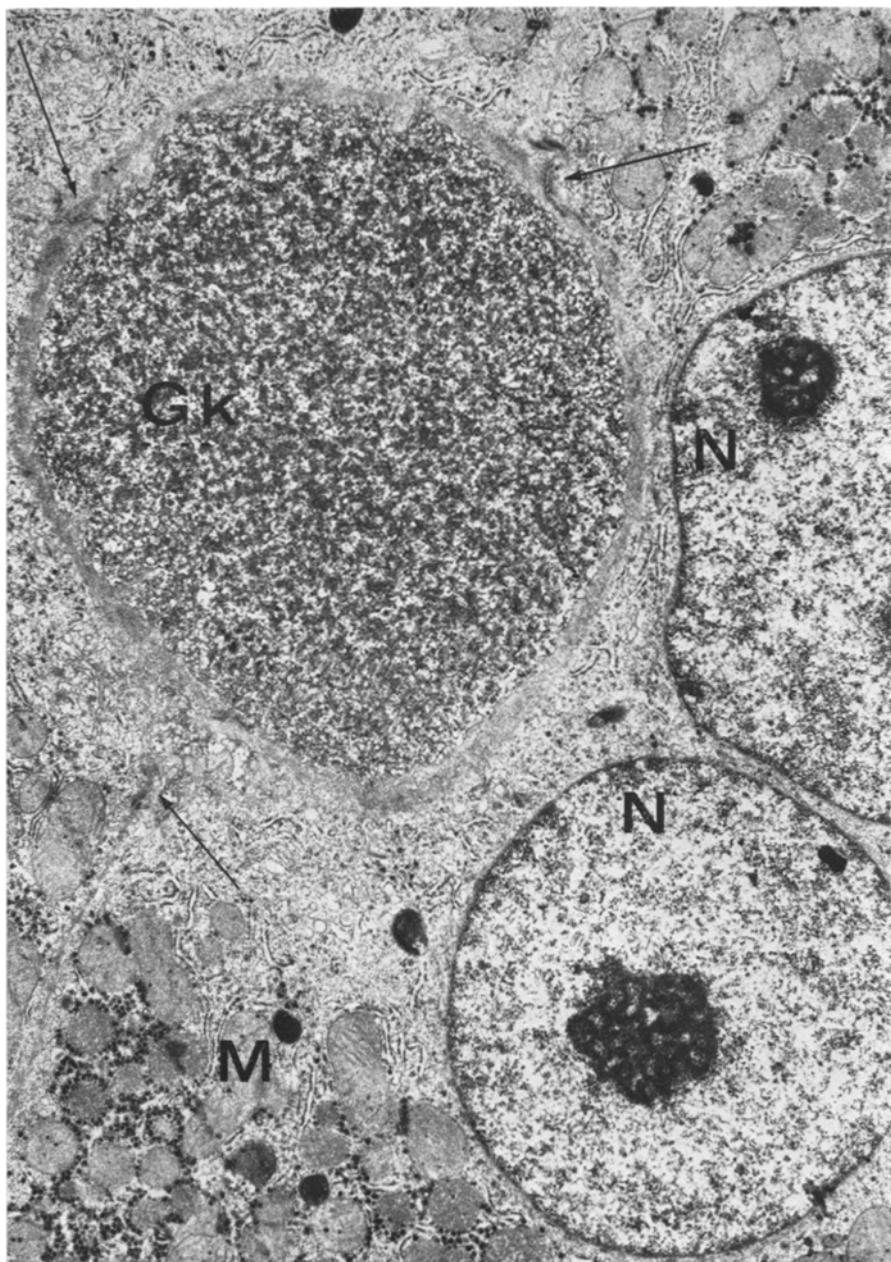


Abb. 2. Erhebliche Dilatation einer Gallenkapillare (*Gk*), deren Lumen mit einer feinflockigen Substanz gefüllt ist. Zellkern (*N*); Mitochondrien (*M*); Desmosomen (Pfeil). Vergrößerung: 9300 \times

An den Parenchymzellen, die derartig veränderte Gallencapillaren bilden, können keine ausgeprägten Alterationen festgestellt werden. Die Zellkerne sind regelrecht konfiguriert und weisen eine normale Chromatinverteilung auf. Das Chondriom dieser Zellen zeigt eine weitgehend normale Feinstruktur. Auffällig ist eine Vermehrung der Membranen des glatten endoplasmatischen Reticulums. Auch Golgi-Apparate können in der Nähe der erweiterten Gallencapillaren sehr häufig beobachtet werden. Besonders im Bereich des Gallepols der Zellen finden sich konzentrisch angeordnete, elektronendichte Einschlußkörper, bei denen es sich um intracelluläres Gallepigment handelt (Abb. 1 b).

Feinstrukturell-morphometrische Befunde

1. Korrelation der morphometrischen Parameter untereinander

Das mittlere Gesamtvolumen der Gallencapillaren — ermittelt auf der Basis aller untersuchten Cholestaseleberen — beträgt 0,629 % des Lebervolumens. Die durchschnittliche Oberfläche der Gallencapillaren — ebenfalls ermittelt an dem gesamten Kollektiv — beträgt $0,0410 \text{ m}^2/\text{cm}^3$ Lebergewebe. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß der tatsächliche Wert für die Oberfläche höher liegen dürfte, da nicht alle Schnittpunkte der Linienschar mit den Mikrovilli erkennbar sind.

Um zu prüfen, ob Korrelationen zwischen den verschiedenen morphometrischen Parametern an den Gallencapillaren untereinander bestehen, wurde das Kollektiv über den Medianwert für das Gesamtvolumen der Gallencapillaren in zwei Gruppen geteilt. Jeder Gruppe wurden die jeweiligen anderen morphometrischen Parameter zugeordnet. Die Prüfung auf signifikante Unterschiede er-

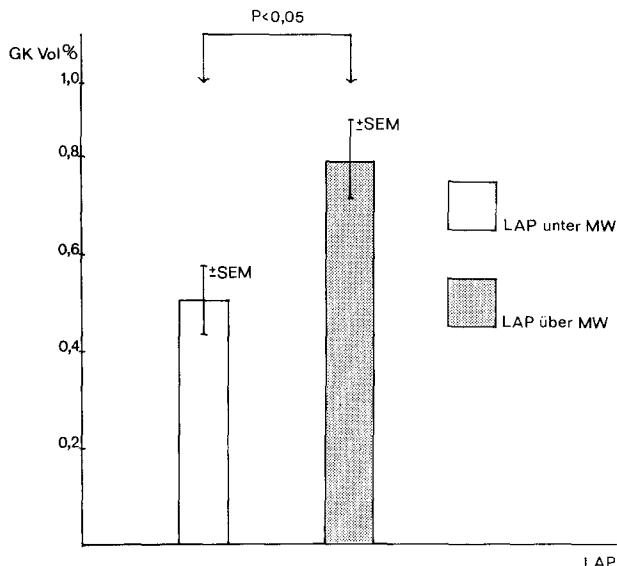


Abb. 3. Volumen der Gallencapillaren (*Gk Vol.- %*) in Prozent des Lebervolumens dargestellt in Abhängigkeit von der Serumaktivität der Leucinaminopeptidase (*LAP*). Teilung der *LAP*-Werte über ihren Median (*MW*). Eingetragen sind der Standardfehler des Mittelwertes (*SEM*) und die Signifikanzschwelle des Unterschiedes (Einzelheiten s. Text)

folgte mit dem *t*-Test nach Student. Dabei konnte nachgewiesen werden, daß bei einer Erhöhung des Gesamtvolumens der Gallencapillaren auch die Anzahl der Gallencapillarenanschnitte in starkem Maße zunimmt. In der Gruppe mit niedrigem Gesamtvolume der Gallencapillaren beträgt die durchschnittliche Zahl der Gallencapillarenanschnitte pro Bild 0,338, in der Gruppe mit hohem Gesamtvolume dagegen 0,524. Der Unterschied ist statistisch signifikant ($P < 0,005$). Zwischen dem Gesamtvolume und der gesamten Oberfläche der Gallencapillaren bei intrahepatischer Cholestase besteht dagegen keine statistisch gesicherte Korrelation.

2. Korrelation der morphometrischen Parameter mit den Enzymwerten im Serum

Tabelle 1. Korrelation der morphometrischen Parameter mit den Enzymwerten im Serum. Die Angaben für das Volumen und Oberfläche der Gallencapillaren beziehen sich jeweils auf 1 ml Lebergewebe. Die Angabe für die Zahl der Gallencapillarenanschnitte stellt dagegen die pro Bild beobachtete Anzahl der Anschnitte dar (< MW bedeutet unter Medianwert, > MW über Medianwert, S.F. = Standardfehler. Einzelheiten s. Text)

	N_{Gk}	S.F.	Vol.-% _{Gk}	S.F.	Obf _{Gk} (m ² /cm ³)	S.F.	Vol.-% _{Gk} $\frac{N_{Gk}}{N_{Gk}}$	S.F.
LAP < MW	0,456	0,0402	0,506	0,0681	0,0323	0,00332	1,158	0,104
> MW	0,480	0,0390	0,791	0,0845	0,0416	0,00537	1,648	0,122
<i>P</i> <	—		0,05		0,1		0,01	
AP < MW	0,425	0,0420	0,542	0,0596	0,0420	0,00645	1,275	0,114
> MW	0,453	0,0450	0,666	0,0874	0,0448	0,00824	1,450	0,152
<i>P</i> <	—		—		—		—	
G-Ph nicht vermehrt	0,404	0,0322	0,560	0,0593	0,0398	0,00550	1,386	0,1056
vermehrt	0,508	0,0891	0,739	0,134	0,0440	0,0132	1,455	0,100
<i>P</i> <	0,2		0,1		—		—	
5'Nu < MW	0,378	0,0324	0,566	0,0686	0,0375	0,00550	1,510	0,137
> MW	0,559	0,0753	0,657	0,0528	0,0461	0,00950	1,180	0,143
<i>P</i> <	0,05		—		—		—	
Bili < MW	0,407	0,0413	0,632	0,0864	0,0340	0,00254	1,558	0,159
> MW	0,441	0,0502	0,637	0,0710	0,0480	0,0101	1,444	0,0990
<i>P</i> <	—		—		—		—	

Leucinaminopeptidase

Zwischen der Gruppe mit niedrigen Serumaktivitäten der Leucinaminopeptidase und der Gruppe mit hohen Serumaktivitäten ergeben sich beim Vergleich des Gesamtvolume der Gallencapillaren in diesen beiden Gruppen signifikante Unterschiede. In der Gruppe mit niedriger Serumaktivität der Leucinaminopeptidase weisen die Gallencapillaren ein sehr viel geringeres Gesamtvolume auf als in der Gruppe mit hoher Serumaktivität. Die Unterschiede sind sta-

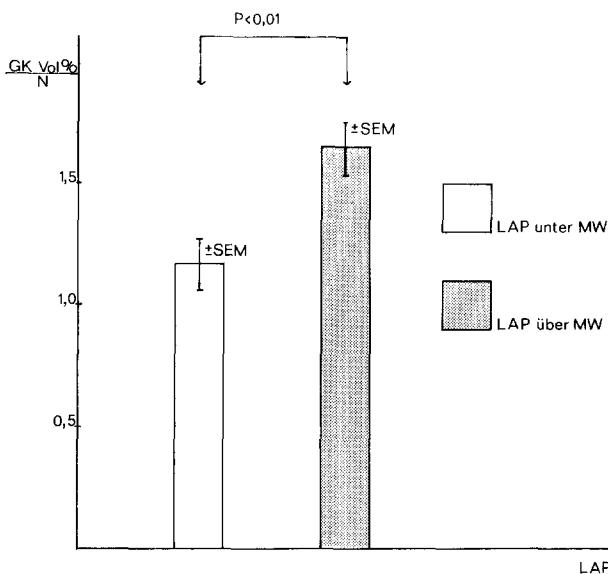


Abb. 4. Quotient aus dem Gesamtvolumen und der Anzahl der Gallencapillarenanschnitte (Vol.-% G_k/N_{G_k}) dargestellt in Abhängigkeit von der Serumaktivität der Leucinaminopeptidase (LAP). Einzelheiten s. Abb. 3

tistisch signifikant ($P < 0,05$) (Abb. 3). Wenn statt des Gesamtvolumens der Gallencapillaren der Quotient aus dem Gesamtvolumen und der Anzahl der Gyllyncapillarenanschnitte berücksichtigt wird, zeigen sich noch deutlichere Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($P < 0,01$) (Abb. 4). In der Gruppe mit hohen Werten für die Leucinaminopeptidase zeigt die Oberfläche der Gallencapillaren eine Tendenz zu höheren Werten. Das Ergebnis ist jedoch statistisch nicht zu sichern.

Alkalische Phosphatase

Es kann keine Korrelation der Serumaktivitäten der alkalischen Gesamtphosphatase mit den morphometrischen Parametern an den Gallencapillaren nachgewiesen werden. In dem hier untersuchten Krankengut lassen die Werte auch keine deutliche Tendenz erkennen.

Gallengangsphosphatase

Bei der Gallengangsphosphatase, einem Isoenzym der alkalischen Phosphatase, lässt sich dagegen eine Korrelation mit der Morphologie der Gallencapillaren erkennen. Bei Patienten mit vermehrter Gallengangsphosphatase im Serum ist die Anzahl der Gallengangsanschnitte erhöht. Die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant ($P < 0,2$). Das Gesamtvolume der Gallencapillaren ist in der Gruppe mit vermehrter Gallengangsphosphatase höher als in der Gruppe ohne vermehrte Gallengangsphosphatase ($P < 0,1$). Die Oberfläche der Gallencapillaren zeigt keine Korrelation mit der Gallengangsphosphatase.

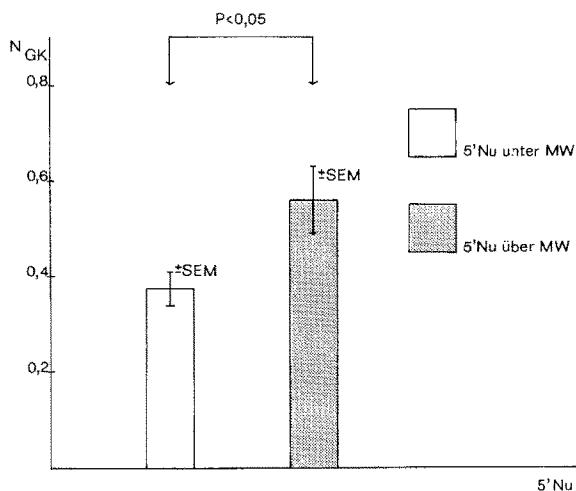


Abb. 5. Anzahl (N) der Gallencapillarenanschnitte (N_{GK}) je Bild dargestellt in Abhängigkeit von der Serumaktivität der 5'-Nucleotidase (5'-Nu). Einzelheiten s. Abb. 3

5'-Nucleotidase

In der Gruppe mit hoher 5'-Nucleotidase ist die Anzahl der Gallencapillarenanschnitte erheblich erhöht ($P < 0,05$). Im Gegensatz zur Leucinaminopeptidase können für das Gesamtvolumen der Gallencapillaren zwischen den beiden Gruppen jedoch keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Bilirubin

Die Serumwerte für das Gesamtbilirubin lassen in dem untersuchten Material keine deutliche Korrelation mit der Morphologie der Gallencapillaren erkennen.

Diskussion

Feinstrukturell-morphometrische Analysen menschlicher Leberbiopsien und ihre Beziehungen zu den biochemischen oder klinisch-chemischen Daten sind bislang kaum bekannt geworden. Das ist in erster Linie darauf zurückzuführen, daß die morphometrische Auswertung menschlicher Leberbiopsiezylinder im Vergleich zu tierexperimentellen morphometrischen Untersuchungen erheblich mehr Schwierigkeiten bereitet (Hess u. Mitarb., 1973a, b). In diesem Zusammenhang ist zunächst die Frage von Bedeutung, ob Gewebe, das durch Nadelpunktion gewonnen wurde, für feinstrukturell-morphometrische Untersuchungen überhaupt brauchbar ist. Hess u. Mitarb. (1973a) kommen bei vergleichenden feinstrukturell-morphometrischen Untersuchungen an Nadelbiopsien und intraoperativ gewonnenen Blockbiopsien von Hundelebern zu dem Schluß, daß das durch Nadelbiopsie gewonnene Gewebe durchaus für morphometrische Untersuchungen geeignet sein kann. Voraussetzung ist allerdings, daß genügend Gewebe für die Untersuchung zur Verfügung steht, um repräsentative Ergebnisse zu gewährleisten. Aus diesem Grund wurden in die vorliegende Untersuchung nur Biop-

sien aufgenommen, von denen mindestens 5 Gewebeblöckchen für die elektronenmikroskopische Untersuchung aufgearbeitet werden konnten.

Die Interpretation von feinstrukturell-morphometrischen Ergebnissen an menschlichem Leberbiopsiematerial bereitet auch deshalb besondere Schwierigkeiten, weil morphometrische Normalwerte von menschlichem Material nicht ohne weiteres zu gewinnen sind.

Selbst bei der Untersuchung von Lebern ohne pathologische Enzymwerte sind größere Unterschiede zwischen den einzelnen Individuen zu erwarten, als es in Tierexperimenten der Fall ist. Dabei können z.B. genetische Unterschiede eine Rolle spielen, auch zeigt sich eine gewisse Abhängigkeit der quantitativen Feinstruktur der Leber vom Lebensalter (Roessner u. Mitarb., 1974).

Nach Untersuchungen von Rohr u. Mitarb. (1975) an Leberbiopsien von Patienten ohne pathologische Enzymwerte beträgt die individuelle Streuung der für die einzelnen Patienten ermittelten Daten jedoch nicht mehr als 10%. Für die vorliegenden Untersuchungen muß dabei allerdings berücksichtigt werden, daß in pathologisch veränderten Lebern mit einer größeren Heterogenität des Gewebes zu rechnen ist als in normalen Lebern. Um trotz der erheblichen, bei dem untersuchten Gewebe zu erwartenden Schwankungen der Ergebnisse zu verlässlichen Aussagen zu kommen, wurde den vorliegenden Untersuchungen ein für feinstrukturell-morphometrische Auswertungen sehr großes Kollektiv von 40 Patienten zugrunde gelegt. Für tierexperimentelle feinstrukturell-morphometrische Untersuchungen an Ratten gilt dagegen eine viel geringere Anzahl von Individuen als ausreichend (Weibel u. Mitarb., 1969; Rohr u. Mitarb., 1975). Die morphometrische Auswertung von umfangreichem Untersuchungsmaterial ist zwar zeitraubend, seit kurzem steht jedoch ein halbautomatisches Analysesystem zur Verfügung (Rohr, 1974), mit dem eine Möglichkeit gegeben ist, die Quantifizierung der Feinstruktur erheblich zu rationalisieren.

Durch die morphometrische Auswertung des Biopsiematerials konnte an dem hier untersuchten Krankengut nachgewiesen werden, daß die Serumaktivitäten der Cholestase anzeigenenden Enzyme mit den morphologischen Veränderungen an den Gallencapillaren im Zusammenhang stehen. Für die einzelnen Enzyme ergaben sich dabei allerdings unterschiedliche Ergebnisse. Die deutlichste Korrelation mit der Morphologie zeigte die Leucinaminopeptidase. Auch klinisch wird die Serumaktivität der Leucinaminopeptidase seit langer Zeit als Maßgröße für Cholestase verwendet (Göggel u. Mitarb., 1960; Weber, 1969).

Die diagnostisch ebenfalls wertvolle Gallengangosphosphatase (Gerlach u. Mitarb. 1970) war bei Patienten mit vergrößertem Volumen der Gallencapillaren etwas häufiger im Serum vermehrt, jedoch ließ sich dieser Befund statistisch nicht sichern. Die Serumaktivität der 5'-Nucleotidase korrelierte mit der Anzahl der Gallencapillarenanschnitte im elektronenmikroskopischen Bild. Eine statistisch signifikante Beziehung zum Gallencapillarenvolumen konnte hingegen nicht nachgewiesen werden, obschon die 5'-Nucleotidase klinisch als brauchbarer Indicator einer Choleastase gilt (Gerlach u. Mitarb., 1974).

Als Ergebnis dieser Korrelationsanalyse läßt sich feststellen, daß das pathologische Enzymmuster der „Cholestase anzeigenenden Enzyme“ im Serum, das sich klinisch zur Beurteilung einer Choleastase bewährt hat, und die feinstrukturelle Befunderhebung an den Punktionszylin dern miteinander in Beziehung stehen.

Die erhobenen Befunde legen den Schluß nahe, daß sich der feinstrukturelle Leberbefund und das Enzymmuster der Cholestaseenzyme im Serum einander bei der Beurteilung des Krankheitsbildes ergänzen.

Literatur

- Bessey, O. A., Lowry, O. H., Brock, M. I.: Method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. biol. Chem.* **164**, 321—328 (1964)
- Biava, C.: Studies on cholestasis, II. The fine structure and morphogenesis of hepatocellular and canalicular bile pigment. *Lab. Invest.* **13**, 1099—1123 (1964)
- Breitfellner, G., Holzner, J., Schumacher, A., Stefanello, N.: Die elektronenoptischen und die nach enzymhistochemischer Darstellung der ATPase erkennbaren Veränderungen der Rattenleber bei experimenteller intrahepatischer Cholestase. *Beitr. path. Anat.* **134**, 267—288 (1966)
- Campbell, D.: Determination of 5'-nucleotidase in blood serum. *Biochem. J.* **82**, 34 (1962)
- Cossel, K.: Die menschliche Leber im Elektronenmikroskop, S. 27—31. Jena: Gustav Fischer 1964
- Desmet, V. J.: Morphologic and histochemical aspects of cholestasis. In: *Progress in liver diseases IV*. Hrsg.: Popper, H., Schaffner, F., p. 97—132. New York: Grune & Stratton 1973
- De Wolf-Peeters, C., De Vos, R., Desmet, V., Bianchi, L., Rohr, H. P.: Electron microscopy and morphometry of canalicular differentiation in fetal and neonatal rat liver. *Exp. molec. Path.* **21**, 339—350 (1974)
- Fischmann, W. H., Ghosh, N. K.: Isoenzymes of human alkaline phosphatase. In: *Advances in clinical chemistry*, vol. X, p. 255—270. New York: Academic Press 1967
- Gerlach, U., Hiby, W.: 5'-Nucleotidase. In: H. V. Bergmeyer (Hrsg.), *Methoden der enzymatischen Analyse*, S. 903—908. Weinheim: Verlag Chemie 1974
- Gerlach, U., Hiby, W., Paul, L.: Über den diagnostischen Wert der Bestimmung von Isoenzymen der alkalischen Phosphatase im Serum. *Med. Welt* **21** (NF), 1252—1258 (1970)
- Göggel, K. H., Creutzfeldt, W., Nurucas, J.: Das Verhalten der Leucinaminopeptidase und anderer Enzyme im Serum bei Leber-, Gallen- und Pankreasernkrankungen. *Dtsch. med. Wschr.* **85**, 1756—1764 (1960)
- Hess, F. A., Gnägi, H. R., Weibel, E. R., Preisig, R.: Morphometry of dog liver, Comparison of wedge- and needle biopsies. *Europ. J. clin. Invest.* **3**, 451—458 (1973a)
- Hess, F. A., Weibel, E. R., Preisig, R.: Morphometry of dog liver: normal baseline data. *Virchows Arch. Abt. B* **12**, 303—317 (1973b)
- Hübner, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen bei chronischen Lebererkrankungen des Menschen. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **46**, 224—229 (1962)
- Kalifat, S., Carruthers, J., Steiner, J.: La fine structure des canalicules biliaires du foie de rat dans la cholestase extrahépatique. *Z. Zellforsch.* **57**, 607—626 (1962)
- Klein, U. E.: Dünnschichtelektrophorese in Acrylamid- und Stärkegele auf mikroskopischen Objektträgern. *Clin. chim. Acta* **16**, 163—168 (1967)
- Orlandi, F.: Electron microscopic observations on human liver during cholestasis. *Acta hepato-splenol. (Stuttg.)* **9**, 155—164 (1962)
- Perez, V., Royer, M., Garay, E., Lozzio, B.: Some electron microscopic features of experimental biliary obstruction. In: *Aktuelle Probleme der Hepatologie*. Hrsg.: G. Martini, S. 47—53. Stuttgart: Georg Thieme 1962
- Popper, H., Schaffner, F.: Fine structural changes of the liver. *Ann. intern. Med.* **59**, 674—691 (1963)
- Popper, H., Schaffner, F.: Pathophysiology of cholestasis. *Hum. Path.* **1**, 1—24 (1970)
- Roessner, A., Backwinkel, K.-P., Themann, H.: Feinstrukturell-morphometrische Untersuchungen an Lebern von jungen und alten Ratten. *Zbl. allg. Path.* (1975) (im Druck)
- Rohr, H. P.: Zum Problem der Rationalisierung von morphometrischen Bildanalysen. *Verh. dtsch. Ges. Anat.* **79**, 138 (1974)
- Rohr, H. P., Oberholzer, M., Bartsch, G., Keller, M.: Morphometry in experimental pathology. *Int. Rev. exp. Path.* (1975) (im Druck)

- Rouiller, C.: Experimental toxic injury of the liver. Hrsg.: C. Rouiller, *The liver, biochemistry, morphology, physiology*, p. 355—476. New York: Acad. Press 1963
- Rouiller, C.: Microscopie électronique du foie normal et pathologique. *T. Gastro-ent.* **8**, 245—291 (1965)
- Sachs, L.: Statistische Auswertmethoden. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971
- Schaffner, F.: Electron microscopy of cholestasis. In: *Aktuelle Probleme der Hepatologie*, edit. by G. Martini, p. 37—41. Stuttgart: Georg Thieme 1962
- Schaffner, F.: Morphologic studies on bile secretion. *Amer. J. dig. Dis.* **10**, 99—115 (1965)
- Schaffner, F., Bacchin, P., Hutterer, F., Scharnbeck, H., Sarkozi, K., Denk, H., Popper, H.: Mechanisms of cholestasis. IV. Structural and biochemical changes in the liver and serum of rats after bile duct ligation. *Gastroenterology* **60**, 888—897 (1971)
- Spycher, M. A., Rüttner, J. R.: Zur Pathologie des Ikterus. *Path. et Microbiol. (Basel)* **27**, 387—402 (1964)
- Steiner, J., Carruthers, J.: Studies on the fine structure of the terminal branches of the biliary tree. II. Observations on pathologically altered bile canaliculi. *Amer. J. Path.* **39**, 41—63 (1963)
- Steiner, J., Carruthers, J.: Experimental extrahepatic biliary obstruction: some aspects of the fine structural changes of bile ductules and productules (ducts of Hering). *Amer. J. Path.* **40**, 253—270 (1962)
- Steiner, J., Jezequel, A., Phillips, M., Miyai, K., Arakawa, K.: Some aspects of the ultrastructural pathology of the liver. Hrsg.: H. Popper and F. Schaffner, *Progress in liver diseases*, vol. II, p. 303—372. New York: Grune & Stratton 1965
- Steiner, J., Phillips, M.: Electron microscopy of the excretory pathways in the liver after α -naphthyl isothiocyanate intoxication. *Amer. J. Path.* **43**, 677—696 (1963)
- Szasz, G., Rosenthal, P., Fritzsche, W.: Die γ -Glutamyltranspeptidase-Aktivität im Serum bei hepatobiliären Erkrankungen. *Dtsch. med. Wschr.* **94**, 1911—1914 (1969)
- Tanikawa, K.: Ultrastructural aspects of the liver and its disorders. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968
- Weber, H.: Die Bedeutung der Leuzinaminopeptidase. *Dtsch. med. Wschr.* **94** (1969)
- Weibel, E. R.: Morphometry of the human lung. New York: Acad. Press 1963
- Weibel, E. R., Kistler, G. S., Scherle, W. F.: Practical stereological methods for morphometric cytology. *J. Cell Biol.* **30**, 23—41 (1966)
- Weibel, E. R., Stäubli, W., Gnägi, H. R., Hess, F. A.: Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. I. Morphometric model, stereologic methods and normal morphometric data for rat liver. *J. Cell Biol.* **42**, 68—91 (1969)
- Zaki, F.: Ultrastructure of hepatic cholestasis. *Medicine (Baltimore)* **45**, 537—545 (1966)

Dr. med. A. Roessner
 Lehrstuhl für Med. Cytobiologie
 D-4400 Münster
 Westring 3
 Bundesrepublik Deutschland