

Aus dem Pathologischen und Bakteriologischen Institut der Hauptstadt Hannover
(Leitender Arzt: Prof. Dr. med. M. NORDMANN)

Elektronenoptische Untersuchungen des Pankreas unter normalen und abnormen Stoffwechsellagen*

Von

M. NORDMANN und E. WOLF

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. November 1959)

Der besondere Reiz der elektronenoptischen Untersuchungen am Pankreas liegt wohl darin, daß es nicht mehr eines besonderen Kunstgriffes bedarf, um bei den einzelnen Zellen des Pankreas ihre funktionellen Eigentümlichkeiten wahrscheinlich zu machen. Es ist möglich, bei den starken Vergrößerungen die einzelnen Zelltypen allein an ihren morphologischen Eigenschaften zu erkennen.

Gewebsstückchen aus dem Pankreas wurden in einer 2%igen gepufferten Osmium-Lösung (OsO_4) nach PALADE — pH 7,4 — fixiert. Die Einbettung erfolgte in einem Gemisch aus Butyl- und Methyl-Metacrylat im Verhältnis 8:2 bei Zusatz von 1% Dichlorbenzoylperoxyd.

Geschnitten wurde das Material mit dem Ultramikrotom der Konstruktion von BORRIES (Rheinisch-Westfälisches Institut für Übermikroskopie).

I. Normale Histologie

Wir wiederholen aus früheren eigenen Untersuchungen mit BÄSSLER einige Beobachtungen über die Verteilung der *Blutgefäße*. Wir haben immer wieder bestätigt gefunden, daß die Capillaren des exkretorischen Epithels in lockeren, bindegewebigen Hüllen verlaufen und nur in ihren capillären Ausläufern in unmittelbare Nachbarschaft der Zellmembranen des Epithels geraten. Im Bereich der Inseln ist dieser enge Kontakt zwischen Capillaren und Epithelzellen die Regel, was man übrigens bereits mit dem Lichtmikroskop feststellen konnte. Bei den stärksten Vergrößerungen erkennt man wohl immer noch eine Capillarmembran und eine Zellmembran, die Schichten können aber durch eine mehr oder weniger homogene Schicht untereinander in Verbindung stehen. Diese Eigentümlichkeit gilt auch für andere endokrine Organe, z. B. die Schilddrüse.

Die *Ausführungsgänge* des Pankreas sind ausgekleidet mit einem einschichtigen Epithel, die Zellgrenzen verlaufen verzahnt, die Kerne sind basalständig und liegen etwa in gleicher Höhe (Abb. 1). Der nach der Lichtung gerichtete Saum des Gangepithels besteht aus einer sehr zarten Membran und wird überragt von einem Besatz von Mikrovilli in einer Länge von $1/2 \mu$. Er wurzelt nur sehr flach in der Zelle selbst, die einzelnen Mikrovilli haben eine Dicke von etwa 400 Å. Man trifft sie im Schnitt stets in einer leichten Schlängelung, die immerhin so stark ist, daß man 3 oder 4 plumpe Windungen unterscheiden kann. Man kann diese

* Die Untersuchungen wurden am eigenen Elektronenmikroskop (Philips 75 kV) und dem Elmiskop I (Siemens) im Institut für Angewandte Physik der Technischen Hochschule Hannover durchgeführt. Wir sind Herrn Prof. Dr. HINTZPETER und seinen Assistenten im Institut für Angewandte Physik für die technische Hilfe besonders dankbar.

Zotten auch unter günstigen Verhältnissen im Lichtmikroskop beobachten und sie elektronenoptisch in sehr kleine Gänge hinein verfolgen, also in Gänge mit einer Lichtung von $3-4 \mu$ Durchmesser. Die Bürsten haben ein abgerundetes Ende.

Eine fast regelmäßige Erscheinung in den Ausführungsgängen sind *nekrotische Zellen*, die wegen ihres regelmäßigen Auftretens in den Ultradünnabschnitten ungewöhnlich dicht liegen müssen. Man hat durchaus den Eindruck, daß es sich

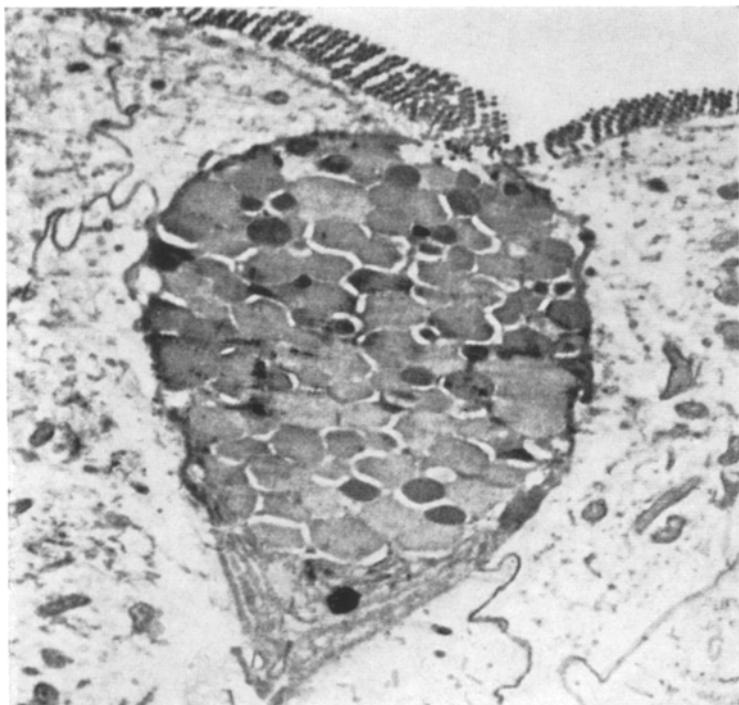


Abb. 1. Ausführungsgang mit verzahntem Epithel, Bürstenbesatz und nekrotische Zelle (Mauserung)
1:7500 (1: $\frac{1}{10}$ verkl.). (Philips 75 kV)

dabei um absterbende Zellen handelt, die, von anderen Zellen noch umringt, in grobe Schollen zerfallen sind. Man beobachtet diese Elemente in allen Höhenlagen des Epithelsaumes, naturgemäß auch im Kontakt mit der Oberfläche, die hier unterbrochen ist und dem nekrotischen Material den Weg nach außen öffnet. Es findet also im Ausführungsgang eine lebhafte Zellmauserung statt, die wir an keiner anderen Stelle des Pankreas angetroffen haben, solange wir mit einem normalen Stalltier gearbeitet haben. Künstlich hervorgerufene Nekrosen haben eine starke Ähnlichkeit mit diesen in Detritus aufgelösten Zellen der Ausführungsgänge. Sollten diese Zellen etwa die im Lichtmikroskop sog. Becherzellen sein, würde zu folgern sein, daß bei der Becherzelle ein Schleimsekretionsvorgang zugrunde liegt, dem die ganze Zelle geopfert würde. Eine solche Funktion der Ausführungszelle stünde allerdings im Widerspruch zu den gleich zu beschreibenden übrigen Eigenschaften dieser Zelle. Es besteht nämlich eine auffallende Ähnlichkeit mit den B-Zellen der Pankreasinseln. Das bezieht sich auf die Gestalt

des Kernes, aber noch viel mehr auf die Mitochondrien, die hier ziemlich groß, vielfach stabförmig, meist aber in eigentümlichen Figuren angeordnet sind und das Zellbild beherrschen. Auch das Ergastoplasma entspricht dem der B-Zellen. Wir können uns bei diesem Befund auf Ergebnisse anderer Untersucher beziehen, die Stoffwechselbeziehungen zwischen Ausführungsgangepithelien und Inselzellen gefunden haben. So haben LAZARUS und VOLK nach Gaben von Hypophysenvorderlappenhormon in den Gangepithelien und den B-Zellen Vacuolenbildung gesehen. Ähnliches sah schon ALLEN. KRACHT fand funktionelle Gleichwertigkeit zwischen den Gangepithelien und den A-Zellen bei Glucagonzufuhr.

II. Die Langerhansschen Inseln

Obwohl es logisch erschien, im Anschluß an die Ausführungsgänge zu der Morphologie des exkretorischen Pankreas überzugehen, haben wir aber die

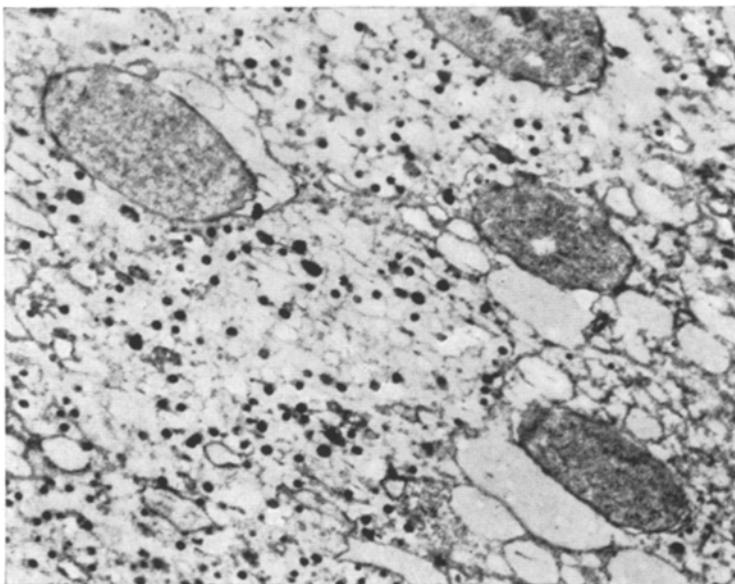


Abb. 2. A-Zellen bei normalem Tier 1:5800 (1/10 verkl.). (Philips 75 kV)

Absicht, zunächst die *Morphologie der Inseln* zu beschreiben. Unser Versuchstier, die Ratte, ist als Untersuchungsobjekt mit Recht besonders beliebt, weil die gegenseitige Anordnung von A- und B-Zellen innerhalb der Inseln ihre Auffindung besonders erleichtert. Es ist aber — wie oben schon in der Einleitung angedeutet wurde — nicht schwer, die A- und B-Zellen zu unterscheiden, wenigstens nicht unter normalen Bedingungen.

Es kommt ferner noch die Beobachtung hinzu, daß Inselzellen auch als einzelne oder mehrere Zellen mitten im exkretorischen Epithel angetroffen werden. Ob es sich dabei um Ausläufer von Inseln handelt oder nicht, ließ sich nicht leicht feststellen, weil nicht immer zwischen den peripheren Inselzellen und den Zellen des exkretorischen Pankreas ein Zwischenraum bestehen muß wie in den meisten Stellen der Inselperipherie (Abb. 9). Wir trafen unter diesen Umständen im

allgemeinen A-Zellen an. Das könnte sehr dafür sprechen, daß es doch Ausläufer kompakter Inseln sind.

Wir haben die schon oft beschriebenen Eigenschaften der *A-Zellen* bestätigen können. Wie schon bei lichtoptischer Betrachtung, wirken alle Inselzellen durchsichtiger, bei elektronenoptischer Betrachtung ist das Ergastoplasm aus einem sehr zierlichen Netz zusammengesetzt, jedoch wechselt die Maschenweite ziemlich stark. Der Zellkern besitzt ein dichteres Netzwerk, im allgemeinen 1 oder 2 Kernkörperchen, je nach der Schnittlage. Die Kernmembran ist manchmal etwas faltig, vielfach aber auch gespannt. Das Netz des Ergastoplasmas schließt eng an diese Kernmembran an. Sie ist ganz besonders breit. Im Gegensatz dazu ist die Zellmembran, die die einzelnen Zellen voneinander abtrennt, ungemein dünn. Insofern sehen sich die Inselzellen alle ziemlich ähnlich. Die A-Zellen präsentieren nun osmophile runde Granula von sehr kurzem Abstand und in einem Durchmesser von etwa $0,1\text{ }\mu$. Sie sind also sehr klein, so daß man die Zelle wohl als dicht granuliert bezeichnen kann. Dazwischen liegen die Mitochondrien, die allerdings bei den A-Zellen nicht so deutlich hervortreten wie bei den B-Zellen. Sie scheinen in der Tat an Zahl geringer zu sein, insbesondere geringer als in den B-Zellen (Abb. 2 und 3).

Die *B-Zellen* besitzen ebenfalls kleine osmophile Granula, aber nur in beschränkter Zahl, dafür aber ausgeprägte Mitochondrien in Hantel- oder Bogenform, V-förmig und auch geweihartig verzweigte. Sie zeigen die charakteristische doppelt konturierte Lamellenstruktur (Abb. 4).

Die Anordnung der exkretorischen Zellen ist vom lichtoptischen Verfahren her bekannt. Ihre lumenwärts gerichtete Zelloberfläche besitzt die gleichen zottenförmigen Fortsätze wie die Epithelien der großen Ausführungsgänge. Es scheint auch so, als ginge die zottige Oberfläche in den Sekretröhren mit abnehmendem Durchmesser verloren, jedenfalls sind die Mikrovilli in den allerkleinsten Lichtungen höchstens noch als Rudiment zu erkennen und sehen eher aus wie eine tropfenförmige Sekretion und nicht wie Zellfortsätze.

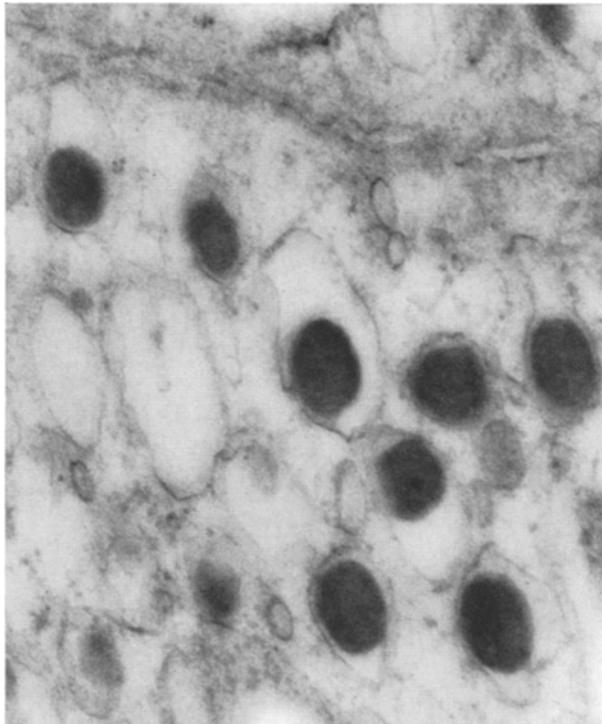


Abb. 3. A-Zellen bei normalem Tier 1:50000
(Siemens Elmikroskop T)

Der bemerkenswerte Aufbau des Ergastoplasmas ist schon mehrfach beschrieben worden. Wir wiederholen daher aus unseren eigenen Beobachtungen die eigenartige Röhrenform des Cytoplasmas, *Röhren* von einem Durchmesser von $0,12 \mu$. Nach außen sind diese Röhren mit allerkleinsten Partikeln besetzt. Dieses Röhrensystem ist wie ein Labyrinth anzuschauen, und es dürfte nicht sehr schnell gelingen, hier ein System zu konstruieren. In den Zwischenräumen zwischen den Röhren liegen Mitochondrien und jene osmophilien Körner, die als Zymogenkörner angeprochen werden und aus der lichtoptischen Histologie schon als

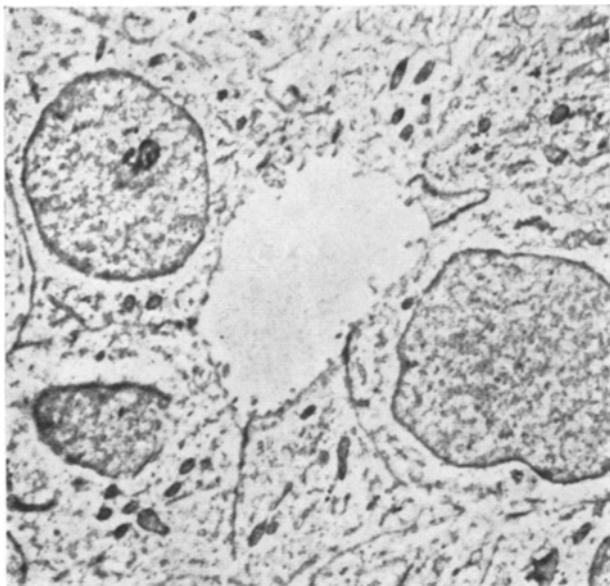


Abb. 4. B-Zellen bei normalem Tier 1:6600 (1:10 verkl.).
(Philips 75 kV)

eigenartige Röhrenform des Cytoplasmas, *Röhren* von einem Durchmesser von $0,12 \mu$. Nach außen sind diese Röhren mit allerkleinsten Partikeln besetzt. Dieses Röhrensystem ist wie ein Labyrinth anzuschauen, und es dürfte nicht sehr schnell gelingen, hier ein System zu konstruieren. In den Zwischenräumen zwischen den Röhren liegen Mitochondrien und jene osmophilien Körner, die als Zymogenkörner angeprochen werden und aus der lichtoptischen Histologie schon als

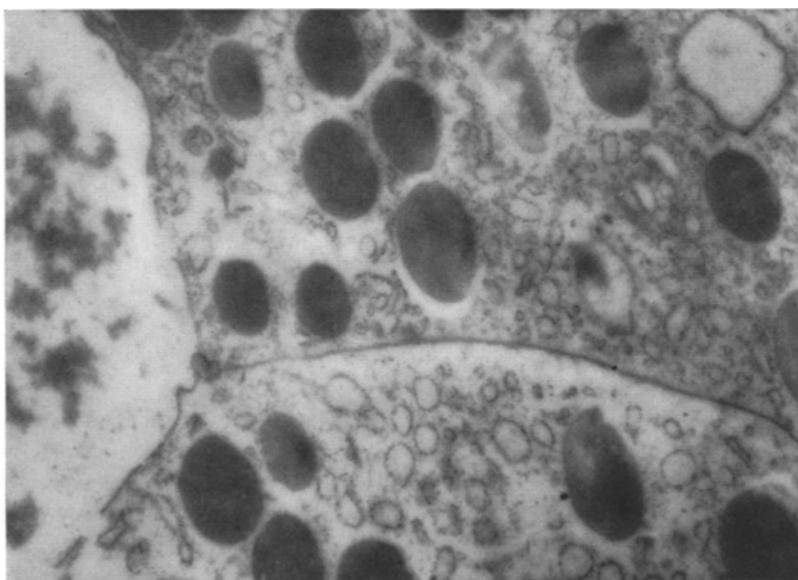


Abb. 5. Exkretorische Zellen des Pankreas 1:40000 (1:10 verkl.). (Siemens Elmikroskop I)

solche erkannt und benannt sind. Vorkommende Schattierungen lassen sich jedenfalls nicht überzeugend deuten (Abb. 5).

Das Röhrensystem steht an mehreren Stellen mit der äußeren Kernmembran in Verbindung und wird bei entsprechender Schnittführung manchmal in querem Durchmesser getroffen und kann dann einen netzartigen, etwas steifen Eindruck machen. Man erkennt auch eine verschiedene Wandstärke der Röhren. Jedenfalls kann die eine Pankreaszelle sehr viel dichter wirken als ihre Nachbarzelle. Manchmal machen die Drüsen durch die Anordnung heller (lockerer) und dunkler (dichterer) Zellen einen regelrecht schachbrettartigen Eindruck. Es ist hier offenbar eine dichtere Struktur der Zwischensubstanz maßgebend, die besonders an Maschenknoten deutlich in Erscheinung treten kann.

STOCKENIUS und KRACHT haben sich mit den Langerhansschen Inseln der Ratte befaßt und sind auch der Ansicht, daß sich die A- und B-Zellen nach Lage und Dichte der Granula unterscheiden lassen, während die Feinstruktur der Granula selbst keine Unterschiede aufweist. Sie haben im Mittel einen Durchmesser von $0,19\mu$ gemessen und beschreiben eine helle Außenzone mit einer kugelförmigen Membran, während sie unmittelbar am Granulum keine Membranbildung erkennen konnten. Die Mitochondrien sind dicht und relativ klein, besonders in den B-Zellen. Auch die Golgi-Zone hebt sich deutlich heraus. Auch hier finden sich kleine Granula und große Vacuolen. Das endplasmatische Reticulum ist in B-Zellen stärker und dichter als in A-Zellen. Die Zelloberfläche ist nach den Autoren glatt und hält einen Abstand von 100 Å von der Membran der Nachbarzelle ein. Verzahnungen und Haftplatten haben sie kaum beobachtet. LACY und wir haben aber solche Verzahnungen sehr wohl bemerkt. LACY selbst verfügt über Erfahrungen der Langerhansschen Inseln an Meerschweinchen, Ratte, Kaninchen und Hund. Er beobachtete bei der Ratte bei schwacher Vergrößerung 2 Zelltypen, ohne daß es möglich gewesen wäre, α - und β -Zellen endgültig zu unterscheiden. Eine der beiden Zellarten habe ein blasses Cytoplasma, dichte runde Granula und einen blassen Kern. Diese Zellen seien an der Peripherie der Inseln und bildeten den kleineren Teil der Inselzellen. Der andere Zelltyp zeige ein dunkleres Cytoplasma, einen dunkleren Kern und dichte runde Granula, offenbar sei das Ergastoplasma dieser β -Zellen dichter. Die Ähnlichkeit der Rattenzellen zu dem der Meerschweinchen wäre offensichtlich.

BENCOSME und PEASE haben sich auch zu den elektronenoptischen Bildern geäußert, und zwar bei Katze und Meerschweinchen. Auch zwischen diesen beiden Tieren ist kein durchgreifender Unterschied in der Zusammensetzung der Inselzellen. Die Granula der α -Zellen haben nach den beiden Autoren $0,2-0,3\mu$ Durchmesser und liegen locker in einer Membran in einem Abstand von $0,02\mu$. Die Granula der α -Zellen sind ziemlich gleichmäßig über die ganze Zelle verteilt, mit Ausnahme der Region des Golgi-Apparates. Mitochondrien sind in dem Cytoplasma sehr zahlreich, besonders aber im Bereich des Golgi-Apparates. Ganz feine Granula sind über das ganze Plasma dicht verteilt.

Die β -Zellen haben nach BENCOSME und PEASE Granula, die nicht ganz rund erscheinen und auch manchmal eine Diskusform zeigen, so daß man an eine Art Metallbildung erinnert wird (bei uns nicht). Die Granula der β -Zellen haben eine gleiche Membran wie in den α -Zellen, auch hier finden sich außerordentlich viele kleinste Granula im endoplasmatischen Reticulum. Die Anzahl der Granula und β -Zellen schwankt in weiten Grenzen von Tier zu Tier und auch von Zelle zu Zelle, so daß die Autoren in diesen Verschiedenheiten eine sekretorische Phase vermuten. Außerdem sind die Granula im Gegensatz zu den α -Zellen polständig. Die Mitochondrien haben in α - und β -Zellen die größte Ähnlichkeit. Ja, sie werden sogar als das einzige übereinstimmende Element der beiden Zellarten geschildert. Mit dieser Ausnahme sind Übergänge von einer Zellart zur anderen niemals gesehen worden.

Wenn wir unsere eigenen Ergebnisse mit denen der 3 Autorengruppen vergleichen, müssen wir sagen, daß in unseren Präparaten die α - und β -Zellen, abgesehen von ihrer peripheren und zentralen Lagerung, sich sehr deutlich durch ihren Gehalt an Granula unterscheiden: Während die α -Zellen fast immer dicht mit Granula besetzt waren, so daß die Mitochondrien zwischen ihnen förmlich gesucht werden müssen, sind die Granula der β -Zellen bei uns sehr viel lockerer angeordnet, und die Mitochondrien treten auf diese Weise in ihrer vielgestaltigen

Form sehr deutlich heraus. Auch haben wir sehr wohl neben vielen glatten Zellgrenzen verzahnte Zellgrenzen gesehen.

Besonders schwierig erscheint uns, ein Urteil über eine verschiedene Dichte des Ergastoplasmas zwischen A- und B-Zellen zu fällen, denn hier haben wir nicht gerade sehr starke Unterschiede gefunden.

Die Abgrenzung der Granula durch einen Hof mit einer geschlossenen Außenmembran ist nach unserer Meinung nicht eine regelmäßige Erscheinung. Wir sind hier viel eher der Ansicht, daß die Granula auch in dem cytoplasmatischen Reticulum gewissermaßen intrazisternal eingebettet sind. Dabei bestehen Berührungs punkte mit dem Reticulum und seinem dichten Körnchenbesatz.

III. Experimentelle Veränderungen

Diese Orientierung über die Morphologie der Zellen in den Langerhansschen Inseln des Pankreas erschien uns genügend, um die Experimente anzustellen. Wir haben dabei geprüft, wie sich die Inselzellen des Pankreas verhalten nach Gaben von Alloxan, Kobalt-Chlorid, Rastinon und ACTH. Diese 4 grundlegenden Gifte oder Medikamente haben wir gewählt, weil in der Literatur eine ziemliche Übereinstimmung hinsichtlich ihrer Wirkung besteht.

Alloxan macht beim Tier eine Blutzuckererhöhung und eine Zuckerharnruhr. Diese Wirkung beruht auf einer Störung von B-Zellen, den Produzenten des Insulins. Dem Kobalt-Chlorid wird nachgerühmt, daß es die α -Zellen angreifen soll und auf diese Weise auch in den Stoffwechselhaushalt der Inseln eingreift und Blutzuckersteigerungen hervorruft. Aber das Pankreas von Tieren, die mit Kobalt-Chlorid behandelt worden sind, ist nicht in der Lage, bei einem anderen Tier eine Hyperglykämie zu erzeugen (BENCOSME und FREI). Die Wirkung des ACTH ist auch schon wiederholt untersucht. Man hat aus einer Degranulierung der B-Zellen im lichtoptischen Bilde eine Zellerschöpfung vermutet (VOLK und LAZARUS). Diese Autoren haben übrigens auch gleichzeitig eine Proliferation der Gangepithelien beschrieben (s. oben). Im Gegensatz dazu haben BUTTURINI und MANCINI bei ihren ausgedehnten Experimenten mit ACTH und verwandten Substanzen eine Aktivierung der A- und B-Zellen gesehen. Endlich ist das Rastinon als orales Antidiabeticum Gegenstand ausgedehnter Experimente gewesen, welche zeigten, daß trotz anfänglicher Widersprüche offenbar die Zellstruktur der Inseln ebenso wie bei ACTH nicht angegriffen wurde.

Wenn man mit elektronenoptischen Mitteln die Erfahrungen der Lichtmikroskopie nachprüft, kann es nur darauf ankommen, etwas intimere Einzelheiten über das Geschehen in der Zelle zu ermitteln. Auf der einen Seite konnte man Vorstufen notorischen Unterganges erwarten, auf der anderen Seite Stimulierungen der Zellen, die durch morphologische Befunde nur indirekt wahrscheinlich gemacht werden können.

Versuche mit Alloxan

Wir haben Ratten mit 6%igem Alloxan gespritzt, und zwar 200 cm³ pro Kilogramm Körpergewicht. Die Dosis wurde auf einmal verabreicht oder über 4 Tage verteilt. Bei der Tötung der Tiere ergab der Blutzucker entsprechend erhöhte Werte. Versuchsreihen mit milderer Dosierung ergaben entsprechend niedrige, doch stets über der Norm gelegene Blutzuckerwerte bis zu 181 mg-%. Kurze, hochdosierte Alloxangaben erzielten Blutzuckerwerte bis 340 mg-%.

Es soll nur nebenbei erwähnt werden, daß sich auch erhebliche Befunde am exkretorischen Pankreas bemerkbar machen, insbesondere handelte es sich um eine Lückenbildung, die bei den akuten Versuchen fast wie eine einfache Schwellung aussah, die aber doch bei den stärkeren Vergrößerungen eine schwere Verziehung des Labyrinthes, also der einzelnen Röhren, zur Folge hatte (Abb. 6).

Die Inseln reagieren stark, wie es ja von der lichtoptischen Untersuchung bekannt ist. Hier steht eine auffallende Auflockerung des Ergastoplasmas im Vordergrund. In der Tat sind es die B-Zellen im Zentrum der Inseln, die hier besonders deutliche Reaktionen zeigen. Es kommt schon bei den ganz kurzen hochdosierten Alloxanvergiftungen zu einem vollständigen Zusammenbruch der Zellstruktur. Er beginnt an umschriebenen Bezirken des Cytoplasmas, also im Zelleib, während der Kern noch keine auffallenden Veränderungen zu zeigen

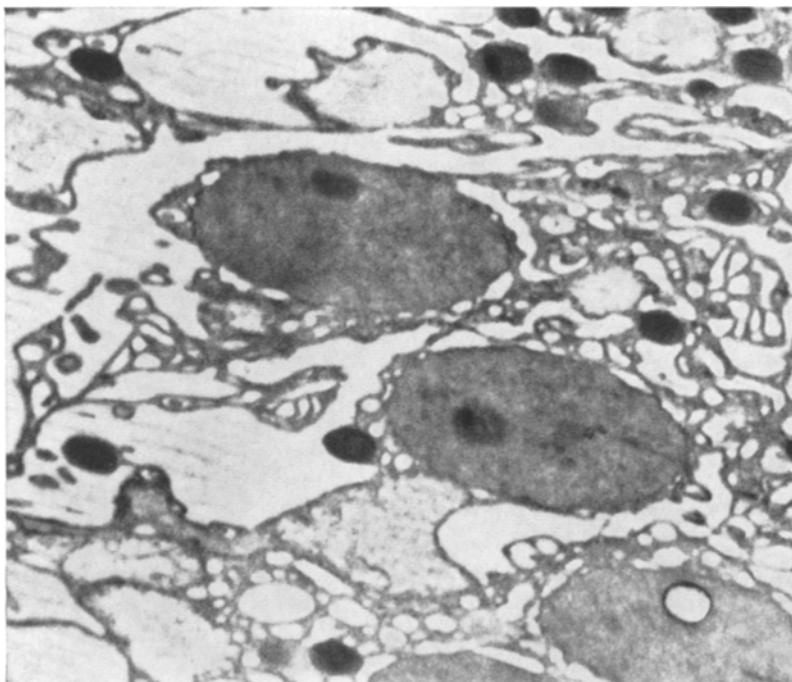


Abb. 6. Exkretorisches Epithel bei Alloxan-Vergiftung. Verziehung der Röhren und Erweiterung der Zwischenräume im Ergastoplasma 1:11700 (1:5 μ verkl.). (Philips 75 kV)

braucht. Das netzförmige Gerüst des Zelleibes weicht auseinander, zeigt unscharfe Konturen. Die Mitochondrien zeigen Quellung und Auseinanderweichen und endlich ist an umschriebenen Stellen die Zellstruktur zu einem strukturlosen Brei zusammengesintert. Am längsten scheint die Kernmembran stehenzubleiben (Abb. 7). Bei den schwächeren Dosierungen ist in den Inseln eine starke Erweiterung der Capillaren zu beobachten. Die B-Zellen zeigen eine bemerkenswerte Auflockerung des reticulären Gerüstes, starke Einschnürungen des Zellkernes und Untergang bzw. degenerative Erscheinungen an den Mitochondrien. Die A-Zellen sind nicht völlig unbeteiligt, zwar sind ihre Mitochondrien einigermaßen intakt und ihre Granulierung unverändert erhalten, aber das Cytoplasma zeigt eine abnorme Auflockerung.

Die Versuche haben also ergeben, daß ganz analog den lichtoptischen Feststellungen die B-Zellen bis zum Untergang reagieren können, daß aber auch sämtliche andere Zellen des Pankreas unter diesem Gifte leiden und zumindest eine

starke Auflockerung der ganzen Struktur erfahren. Die Schädigung der B-Zellen schreitet allerdings mit Abstand allen anderen Veränderungen voran. Der am leichtesten festzustellende Ausschlag im klinischen Verhalten ist der erhöhte Blutzucker.

Versuche mit Kobalt-Chlorid

Bei der Dosierung richteten wir uns nach den Angaben aus der Literatur und haben $0,1 \text{ cm}^3$ einer 0,1 %igen Lösung über 8 Tage 60 g schweren Ratten täglich gespritzt. Am Ende

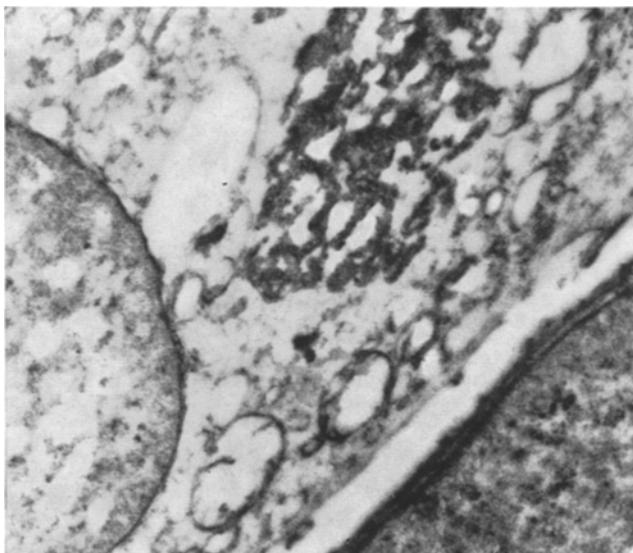


Abb. 7. B-Zelle bei Alloxan-Vergiftung. Nekrose im Zelleib. Auflösung des Ergastoplasmas und der Mitochondrien, Schwellung des Kernes 1:12000 (1:9/10 verkl.). (Philips 75 kV)

des Versuches fanden sich erhöhte Blutzuckerwerte bis zu 140 mg-% ; morphologisch machten wir folgende Feststellungen:

Das exkretorische Pankreas zeigt im Zelleib Löcher, die tatsächlich an ein Loch im Strumpf erinnern. Es findet sich eine entsprechend bizarre begrenzte Aussparung der Struktur, und das labyrinthartige Geflecht des Ergastoplasmas erfährt an den Rändern dieser zackigen Löcher eine amorphe Verdichtung. Solche Löcher können sehr zahlreich sein (Abb. 8). Die Mitochondrien erfahren eine erhebliche Störung, sie zeigen Vacuolen und Abscheidung kleinsten osmophiler Granula und eine der Vacuolen entsprechende Unterbrechung der Lamellenstruktur. Die dem Kobalt-Chlorid nachgerühmte effektive Schädigung von Inselzellen, insbesondere A-Zellen, konnten wir kaum bestätigen. Eine gewisse Auflockerung der Struktur ist in den A-Zellen vielleicht zu konstatieren; ihre Mitochondrien sind zu spießförmigen Figuren zusammengesintert, doch zeigen die kleinen Granula weder Auflösung noch Untergang. Immerhin hat man an vielen Stellen den Eindruck, als seien die Granula mehr als sonst geschichtet, d.h., daß sie einen dunkleren Mittelpunkt und eine hellere Peripherie haben.

Schließlich kommen auch im Kern an einzelnen Stellen abnorme Faltenbildungen und kleine Verdichtungszonen vor. Die Inselzellen haben keinen besonderen Vorsprung in der allgemeinen Zellschädigung des gesamten Pankreas, es

hat sich also kein Befund ermitteln lassen, der vergleichbar wäre mit dem Untergang der B-Zellen bei der Alloxanvergiftung. Auf alle Fälle sind es Schädigungen, die bei lichtoptischer Untersuchung auch nicht andeutungsweise hervortreten könnten. Wenn trotzdem bei Kobaltvergiftungen höhere Blutzuckerwerte entstehen, ist man versucht, hier indirekte Beziehungen zwischen den exkretorischen und inkretorischen Elementen des Pankreas zu vermuten.

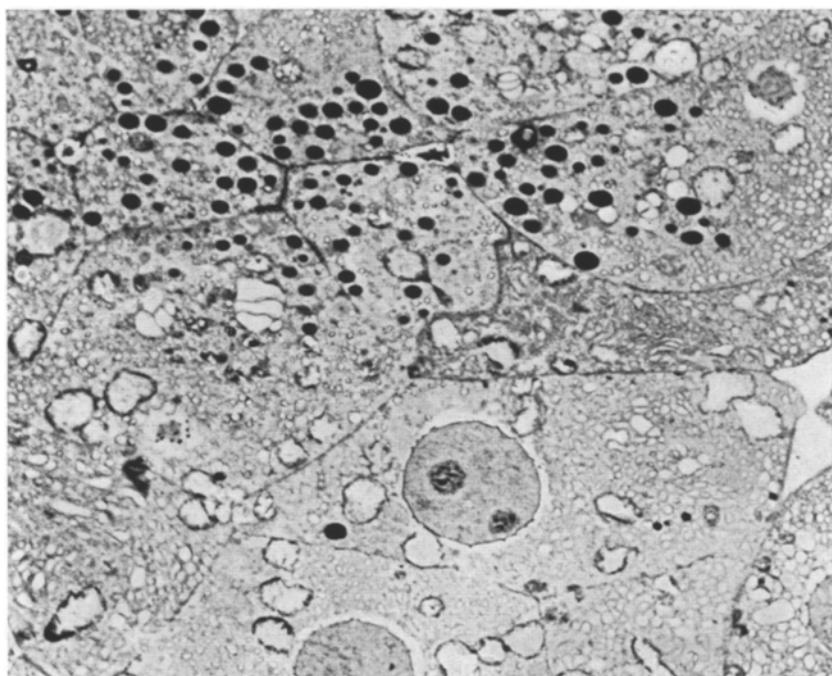


Abb. 8. Exkretorisches Epithel mit Lückenbildungen in Ergastoplasmata nach Vergiftung mit Kobaltchlorid etwa 1:3000 (1:10 verkl.). (Philips 75 kV)

Versuche mit Rastinon

Eine Serie unserer Versuchstiere erhielt 10%iges Rastinon in einer Menge von 0,2—0,4 cm³ und wurde nach 24 Std getötet. Die 2. Serie erhielt 0,2 cm³ über 6 Tage hin verteilt, dabei erhobene Blutzuckerwerte zeigten eine Blutzuckersenkung auf etwa 60 mg-%. Dagegen erfuhrn die kurzfristigen Versuche mit Rastinongaben meist eine Steigerung des Blutzuckers um etwa 20—30 mg-% über die Norm, nachdem der Tiefstand mit 60 mg-% nach 1 Std überwunden war.

Bei beiden Versuchsreihen war am exkretorischen Pankreas kein bemerkenswerter Befund zu erheben, dagegen zeigten die Inseln im Bereich der A-Zellen manchmal ein leichtes Ödem, ein gewisses Auseinanderweichen des Ergastoplasmas. Die Mitochondrien traten etwas deutlicher als sonst in Erscheinung, während die feinen und dichten Granula keine Veränderung erfuhrn. In den B-Zellen waren die Mitochondrien auffallend dicht und groß. Wir haben in einer Reihe von Versuchen und Schnitten dabei den Eindruck gewonnen, daß es sich um eine echte Vergrößerung der Mitochondrien handelt. Derselbe Zuwachs der Mitochondrien war auch im exkretorischen Epithel des Pankreas feststellbar

und endlich auch in den Epithelien der Ausführungsgänge, wenn hier im Vergleich mit der Norm allerdings der Unterschied nicht so groß ist wie in den Pankreaszellen und Inselzellen selbst. Die Strukturen der Granula und der

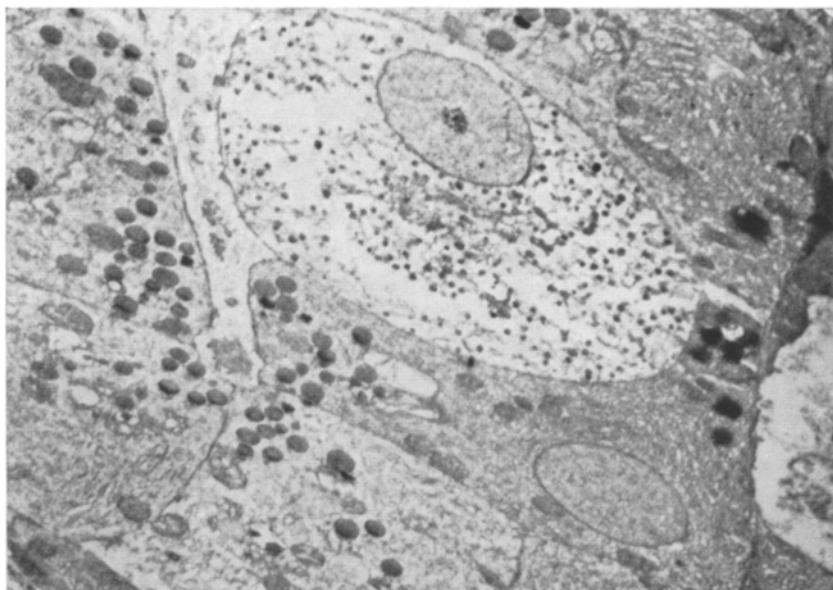


Abb. 9. A-Zelle (im exkretorischen Epithelverband) nach Behandlung mit Rastinon etwa 1:5000 (1:10 verkl.). (Philips 75 kV)

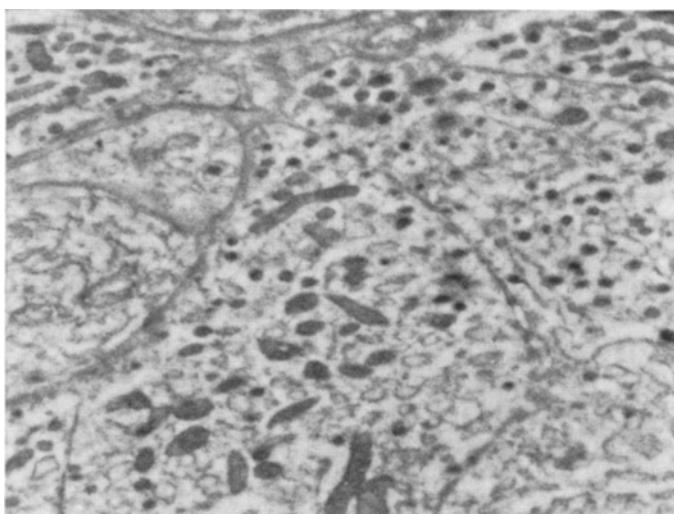


Abb. 10. B-Zellen nach Behandlung mit Rastinon 1:13000 (1:10 verkl.). Verdichtung und Vergrößerung des Mitochondrium (Philips 75 kV)

Mitochondrien zeigten keine Abweichungen von der Norm, soweit das bei der Variationsbreite der Mitochondrien überhaupt gesagt werden kann. Dieses sehr interessante Ergebnis der Rastinonversuche soll weiter unten besprochen werden (Abb. 9 und 10).

Versuche mit ACTH

Die Tiere wurden 14 Tage lang mit 0,5 cm³ ACTH behandelt, in denen sich 2,5 Einheiten befanden. Nach diesem Ablauf wurden die mikroskopischen Untersuchungen vorgenommen und dabei exkretorische und inkretorische Zellen des Pankreas geprüft. Die Versuche ergaben eine leichte Steigerung des Blutzuckers auf 112—130 mg-% am Ende der Behandlungszeit.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe ist sehr wohl mit den Ergebnissen bei Rastinon vergleichbar. Die Inselzellen zeigten sich im Bereich der A-Zellen dicht granuliert, im Bereich der B-Zellen auffallend mitochondrienreich, wobei es zu sehr großen Formen kam, im übrigen zeigte das inkretorische Epithel keinerlei degenerative Merkmale, auch das exkretorische Pankreas zeigte keine nennenswerten Veränderungen. Allerdings fiel auch im exkretorischen Pankreas die Größe der Mitochondrien auf.

Über die Wirkung des oralen Antidiabeticums Rastinon ist schon sehr viel lichtoptisch gearbeitet, aber soweit uns bekannt, gibt es wenige elektronenoptische histologische Untersuchungen. Soweit uns bekannt ist, haben nur GUSEK und KRACHT dieses Jahr ähnliche Untersuchungen bereits publiziert. Sie fanden, daß die morphologischen Veränderungen nach Cortison und Rastinon in verschiedenem Maße gleichsinnig verlaufen. Sie sprechen von einer besonders starken Mitosefrequenz bei Rastinon und von einem wesentlichen Vorsprung der B-Zellen vor den A-Zellen, ja sie haben sogar Wachstum und Neubildung der Inselzellen gesehen. Im lichtoptischen Verfahren glauben sie vergrößerte Inseln mit verwaschenen Konturen gesehen zu haben und eine Verwandlung von A-Zellen zu B-Zellen. Wir haben unsere Untersuchungen zwar vornehmlich elektronenoptisch ausgewertet, haben aber unsere Präparate stets auch lichtoptisch beobachtet. Dabei war die Granulierung der B-Zellen eher verstärkt, soweit sie bei der Azanfärbung hervortritt, aber die Inseln deutlich hyperplastisch, besonders im Bereich der B-Zellen. Wir haben dabei im elektronenoptischen Verfahren niemals eine Kernteilung zu sehen bekommen und sind auch nicht in der Lage gewesen, einen Übergang von A-Zellen in B-Zellen zu bestätigen. Das kann aber sehr wohl daran liegen, daß unsere Versuche nicht wie die von GUSEK und KRACHT über viele Wochen ausgedehnt worden sind. Immerhin glauben wir, daß die Wirkung des Rastinons tatsächlich in einer Stimulierung der B-Zellen liegt, denn die auffallende Anhäufung von Mitochondrien kann kaum anders aufgefaßt werden, zumal auch die Strukturen der Mitochondrien völlig intakt erscheinen. Es ist allerdings auch mit ACTH der gleiche Effekt zu erzielen, und auch dabei stimmen wir mit GUSEK und KRACHT überein, müssen allerdings hinzufügen, daß bei beiden Drogen auch die exkretorischen Pankreaszellen eine Vermehrung und Vergrößerung ihrer Mitochondrien erfahren. Die Parallele dazu war ja auch beim ACTH eine gewisse hohe Lage des Blutzuckerspiegels, während beim Rastinon der Blutzuckerspiegel bei unseren Versuchstieren um den gleichen Betrag unter der Norm lag wie beim ACTH darüber. Jedenfalls ist die oft beschriebene Degranulierung der B-Zellen nach Rastinon nicht identisch mit der tatsächlich auch von uns wahrgenommenen Verminderung der autochthonen Granula der B-Zellen. Eine Verminderung der autochthonen Granula der A-Zellen ist im Gegenteil nicht wahrnehmbar, man könnte eher an eine Verdichtung der Granulierung denken.

Zusammenfassung

Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Pankreas der Ratte haben ergeben:

Die Ausführungsgänge sind mit einem Epithel ausgekleidet, das Mikrovilli besitzt. Die Zellen haben morphologische Ähnlichkeit mit den B-Zellen der Inseln. Die exkretorischen Pankreaszellen zeigen ein charakteristisches, labyrinthartig verzweigtes Röhrensystem von wechselnder Lichtung der einzelnen Röhren und wechselnder Maschenweite des ganzen Systems. Zwischen den exkretorischen Pankreaszellen kommen isoliert liegende A-Zellen vor. A-Zellen und B-Zellen lassen sich unterscheiden durch Anzahl und Dichte kleinster Granula von intrazisternaler Lage und Zahl und Gestalt der Mitochondrien: die A-Zellen haben dichte, feine Granula, die B-Zellen stattliche Mitochondrien und lockere Granula.

Alloxan ruft eine Nekrose von B-Zellen hervor, die im Zelleib beginnt, aber schließlich die ganze Zelle erfaßt. Das exkretorische Pankreas erfährt vergleichsweise schwächere Störungen. Das *Kobalt-Chlorid* zerstört Teile des Röhrensystems im exkretorischen und macht eine schwere Mitochondrienschädigung im exkretorischen und inkretorischen System, wobei keine Zelle einen Vorrang aufweist. *Rastinon* und *ACTH* rufen eine deutliche Vermehrung und Vergrößerung der Mitochondrien im gesamten Pankreas hervor, besonders in den B-Zellen, die auch eine Verminderung der Granula zeigen. Der Blutzuckerspiegel war trotz der gleichsinnigen Veränderungen im histologischen Bild verschieden, beim *ACTH* über der Norm, beim *Rastinon* unter der Norm.

Summary

Pancreatic cells have been studied in rats under normal and abnormal metabolic conditions by electron microscopy. The epithelium of the ducts is crowned by microvilli. Their morphology resembles the B-cells of the islets. The excretory cells of the pancreas show remarkable variations in the lumen of the labyrinth-like tubes of the ergastoplasm and in the density of the walls of the tubes. Isolated A-cells are found between excretory cells with a direct contact of their cell-membranes. A-cells and B-cells can be identified by the number and location of small granules and by the shape and number of the mitochondria. The A-cells have numerous small granules and little mitochondria, the B-cells have many big mitochondria and fewer granules. Alloxan-injections are followed by hyperglycaemia and necrosis of the ergastoplasm in B-cells and later of the whole B-cell. The excretory epithelium shows disorder of the ergastoplasm. After cobalt-chloride injections vacuoles are found in the excretory cells and widespread degeneration of the mitochondria of the excretory and isletcells is seen as well. After injections of *Rastinon* and *ACTH* the number and size of the mitochondria are increased throughout the organ, especially in the B-cells, which show a diminution of granules. The blood-sugar varies, with *ACTH* above, and with *Rastinon* below the normal state.

Literatur

- ALLEN, I.: Zit. nach W. VOLK u. D. LAZARUS. — BENCOSME, S. A., and FREI: H. Relation of glucagon to A-cells of the pancreas. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **91**, 589—592 (1956). — BENCOSME, S. A., and S. S. LAZARUS: The pancreas of cortisone-treated rabbits.

Arch. Path. (Chicago) **62**, 285—295 (1956). — BENCOUME, S. A., and D. C. PEASE: Electron microscopy of the pancreatic islets. Endocrinology **63**, 1—13 (1958). — BUTTURINI, N. V., A. M. MANCINI e A. BARONCHELLI: Acionit specifiche ed aspecifiche degli ormoni insulo-attivi sull'istomorfogenesi del pancreas insulare. Fol. endocr. (Pisa) **9**, 145—164 (1956). — GUSET, W., u. J. KRACHT: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Inselwachstum und acinoinsuläre Transformation. Frankfurt. Z. Path. **70**, 98—106 (1959). — HIRSCH, G. CH.: Die Entstehung der Verdauungsenzyme im exokrinen Pankreas der Säugetiere. Materia med. Nordmark **11**, 5 (1959). — KRACHT, J.: Das Inselzellsystem bei Glucagonzufuhr. Jahresber. 1954/55 Tbc-Forschungsinstitut Borstel **3**, 164—169 (1956). — LACY, P. E.: Electron microscopic identification of different celltypes in the islets of Langerhans of the guinea pig, rat, rabbit and dog. Anat. Rec. **128**, 255—267 (1957). — NORDMANN, M., u. R. BÄSSLER: Elektronenoptische Untersuchungen an Kapillaren. Verh. dtsch. Ges. Path. **41**, 320 (1957). — STOCKENIUS, W., u. J. KRACHT: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Langerhansschen Inseln der Ratte. Endokrinologie **36**, 135—145 (1958). — VOLK, B. W., and S. D. LAZARUS: The effect of various diabetogenic hormones on the structure of the rabbit pancreas. Amer. J. Path. **34**, 121—135 (1958). — WILLIAMSON, J. R., and P. E. LACY: Electron microscopy of islet cells in alloxantreated rabbits. Arch. Path. (Chicago) **67**, 102—109 (1959).

Professor Dr. M. NORDMANN
Pathologisches und Bakteriologisches Institut
der Hauptstadt Hannover, Kniggestraße 7