

Zur Cytopathologie der disseminierten endokrinen Zellen des Magens bei Gastritis, Ulcus und Magencarcinom*

H. Mitschke und M. Becker

Pathologisches Institut der Universität Hamburg (Direktor: Prof. Dr. G. Seifert)

Eingegangen am 8. August 1972

Cytopathologic Investigations on the Endocrine Cells of the Human Gastric Mucosa in Atrophic Gastritis, Ulcerative Disease and Carcinoma of the Stomach

Summary. The disseminated endocrine cells of the gastric mucosa were investigated by cytochemical and immunofluorescent methods in cases of chronic atrophic gastritis, ulcerative disease and carcinoma of the stomach. The Gastrin- or G-cells are specifically localized by immunofluorescence using antibodies to synthetic human Gastrin. The G-cells are detected cytochemically by the Grimelius' argyrophil method (1968), lead-haematoxylin, masked metachromasia and aldehyde fuchsin. The argyrophil cells shown up by the older techniques of Davenport or Grimelius (1964) do not correspond to G- or Gastrin-cells in man. A second cell type, the argentaffin and diazonium-positive Ec-cell, reacts more strongly to argyrophil methods and lead-haematoxylin. The D- and ECL-cells are less easily identified by cytochemical reactions and by their distribution in the gastric mucosa.

In chronic atrophic gastritis the G-cells tend to be decreased in numbers in proportion to the extent of the inflammation and atrophy of the mucosa. The intestinalized glands contain numerous endocrine cells, which are cytochemically Ec-cells, but no G-cells. In pernicious anaemia the pseudopyloric glands in the fundic region also contain G-cells. The G-cells and, to a lesser extent, the Ec-cells increase in numbers in cases of duodenal ulcer. In gastric ulcer and carcinoma of the stomach no significant difference in the endocrine cells is observed.

Zusammenfassung. Die disseminierten endokrinen Zellen besonders des Magenansatzes wurden mit cytochemischen und immunhistologischen Methoden bei chronischer Gastritis, Ulcus und Magencarcinom untersucht. Als spezifische Methode zur lichtmikroskopischen Lokalisation der Gastrin- oder G-Zellen wird die Immunhistologie mit Anti-Gastrinseren angesehen. Die G-Zellen werden cytochemisch mit der Versilberung nach Grimelius (1968), mit der Bleihämatoxylinreaktion, der maskierten Metachromasie oder Fluoreszenz und mit der Aldehydfuchsinreaktion nachgewiesen. Die mit älteren Methoden der Versilberung dargestellten argyrophilen Zellen entsprechen beim Menschen nicht den G-Zellen. Die Ec-Zelle stellt einen zweiten Zelltyp dar, der neben der Argentaaffinität und Diazoniumreaktion durch einen kräftigeren Ausfall der Argyrophilie und Bleihämatoxylinreaktion gekennzeichnet ist. Ferner lassen sich nach der Lokalisation und Cytochemie weniger eindeutig ECL- und D-Zellen abgrenzen.

Bei chronischer Gastritis ist in Abhängigkeit vom Ausmaß der Entzündung die Zahl der G-Zellen eher reduziert, die der Ec-Zellen gering vermehrt. In Bereichen intestinaler Metaplasien treten besonders zahlreich endokrine Zellen auf, die sich cytochemisch wie Ec-Zellen verhalten. G-Zellen kommen in den intestinalisierten Bereichen nicht vor. Dagegen sind bei perniziöser Anämie in pseudopylorischen Drüsen des Korpusbereiches auch G-Zellen nach-

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

weisbar. Bei *Ulcus duodeni* sind die G-Zellen und geringgradig auch die Ec-Zellen vermehrt. Bei *Ulcus ventriculi* und Magencarcinom ist keine charakteristische Veränderung der endokrinen Zellen nachweisbar.

Immunhistologische, cytochemische und elektronenoptische Befunde haben gezeigt, daß der Magen-Darm-Trakt außer den Funktionen der Digestion und Absorption ein disseminierte endokrines Organ darstellt. Neben der schon lange bekannten Gruppe der enterochromaffinen oder argentaffinen Zellen als Serotoninbildner (Erspamer und Asero, 1952) wurde eine weitere Zellgruppe mit ähnlicher Struktur, jedoch unterschiedlichem cytochemischen Verhalten abgegrenzt, die zunächst als differente funktionelle Stadien der enterochromaffinen Zellen interpretiert wurden (Hamperl, 1952; Ratzenhofer und Leb, 1965; Singh, 1964a). Cytochemische (Solcia *et al.*, 1967, 1970b; Pearse *et al.*, 1970b) und elektronenmikroskopische Untersuchungen (Forssmann *et al.*, 1969; Vassallo *et al.*, 1971) haben später zur Identifizierung mehrerer nicht-Ec-Zelltypen mit vermutlich endokriner Aktivität geführt. Nach der Übereinkunft auf dem Symposium über die celluläre Lokalisation, Physiologie und Pathophysiologie der gastrointestinalen Hormone in Wiesbaden (Creutzfeldt, 1970) wird in der Magenschleimhaut des Menschen die Ec- oder enterochromaffine Zelle von der ECL- und D-Zelle sowie der G- oder Gastrinzelle unterschieden. Im Dünndarm sind die Ec-Zelle, die L- oder auch EG-Zelle mit immunhistologisch nachgewiesener Enteroglucagonproduktion und die S-Zelle mit Sekretinproduktion (Polak *et al.*, 1971b) lokalisiert. Über das Verhalten der endokrinen Zellen in der Magenschleimhaut des Menschen bei pathologischen Veränderungen liegen erste Befunde vor (Pearse *et al.*, 1970b; Solcia *et al.*, 1970a). In dieser Arbeit soll ein weiterer morphologischer Beitrag über das Verhalten der disseminierten endokrinen Zellen des Magens bei *Ulcus ventriculi*, *Ulcus duodeni*, Magencarcinom und chronischer Gastritis besonders mit lichtmikroskopischen und cytochemischen Methoden vorgelegt werden.

Material und Methodik

Zur Untersuchung gelangten 17 Mägen, die wegen eines *Ulcus ventriculi*, *Ulcus duodeni* oder wegen eines Magencarcinoms reseziert wurden. Ein Carcinom war auf dem Boden einer chronisch-atrophischen Gastritis mit intestinaler Metaplasie bei perniziöser Anämie entstanden. In Einzelfällen wurden auch gastroskopisch entnommene Magenbiopsien bearbeitet. Zu Vergleichszwecken wurde Magenschleimhaut von plötzlich Verstorbenen unterschiedlichen Alters entnommen.

Fixierung. Die Schleimhaut wurde unmittelbar nach der Entnahme in folgenden Lösungen fixiert:

1. 10% neutrales Formalin, etwa 3 Std bei 4° C.
2. 6% Glutaraldehyd-Phosphatpuffer pH 7,4.
3. Glutaraldehyd-Pikrinsäure-Acetat (Solcia *et al.*, 1968).
4. Bouinsche Lösung.
5. Hellysche Lösung, etwa 6—8 Std mit anschließender 24stündiger Wässerung.

Die Gewebe wurden danach dehydriert und in Paraffin eingebettet.

Cytochemische Reaktionen. Je nach Fixierung gelangten folgende Reaktionen zur Anwendung:

1. Argentaffine Reaktion nach Masson-Hamperl (Hamperl, 1927).
2. Diazoniumreaktion mit Echtschwarz B oder Fast Black K.

3. Carbodiimidreaktion nach Geyer (1964).
4. Versilberung nach Bodian in der Modifikation nach Grimelius (1964).
5. Versilberung nach Davenport in der Modifikation nach Hellerström-Hellmann (1960).
6. Versilberung nach Grimelius (1968). Bei dieser Reaktion wurden die Konzentrationen des Silbernitrats, die Inkubationszeiten und Temperatur, ferner die Reduktionslösung variiert. Als Standardmethode verwandten wir eine Silbernitratkonzentration von 0,1%, eine Inkubationszeit von 7 Std bei 60° C und als Reduktionslösung wie angegeben 1% Hydrochinon und 5% Natriumsulfit.
7. Bleihämatoxylinreaktion in der Originalmethode nach MacConaill wie auch in der Modifikation nach Solcia *et al.* (1969).
8. Maskierte Metachromasie oder Fluoreszenz nach Säurehydrolyse mit Toluidinblau oder Pseudoisocyanin (Solcia *et al.*, 1968) und die maskierte Alcianophilie (Bussolati *et al.*, 1969). Die Hydrolysezeiten betrugen bis zu 3 Std nach Fixierung in Bouinscher Lösung, etwa 6—8 Std nach Fixierung in Glutaraldehydgemischen. Als Farbstoffe wurden Toluidinblau (Merck), Pseudoisocyanin (Harms, Leverkusen) und Alcianblau (Gurr) angewandt.
9. Aldehydfuchsinreaktion (Polak *et al.*, 1971a), modifiziert nach kurzer Oxydation mit Perameisensäure.

Die Gastrinzellen wurden ferner in Einzelfällen auch immunhistologisch mit Anti-Gastrin-
seren dargestellt (Mitschke, 1971).

Ergebnisse

1. Orthologische Befunde

Mit der *Reaktion nach Masson-Hamperl* stellen sich die vorwiegend am Drüsengrund gelegenen argentaffinen Zellen dar. Sie zeigen eine sehr variable Zellform mit zipfelförmigen Zellfortsätzen entlang der Basalmembran. Die Zellen sind kleiner als die angrenzenden Drüsenepithelien. Eine direkte Beziehung zum Drüsenlumen ist meist nicht nachweisbar. Die Silberniederschläge sind auf das gesamte Cytoplasma verteilt. Am Grund intestinalisierter Drüsen liegen sehr zahlreiche argentaffine Zellen dicht nebeneinander. Diese zeigen eine pyramidale Zellform und erreichen oft mit schmalen Zellfortsätzen das Drüsenlumen. Sie sind schmaler als die anliegenden Drüsenepithelien. Die Silbergranula sind retronucleär verdichtet. Die argentaffinen Zellen entsprechen in ihren histochemischen Reaktionen, der Form und Lokalisation nach den Ec-Zellen.

Die Ec-Zellen werden in gleicher Verteilung und mit den oben beschriebenen morphologischen Charakteristika in der erhaltenen Korpus- und Antrumschleimhaut wie auch in den intestinalisierten Bereichen mit der *Diazonium- und Carbodiimidreaktion* dargestellt (Abb. 1). Einzelne Carbodiimid-positive Zellen, die häufiger auch im höheren Schleimhautniveau nachweisbar sind, können dafür sprechen, daß ein weiterer Zelltyp, der durch ein saures Protein gekennzeichnet ist, mit dieser Reaktion erfaßt wird. Die Carbodiimidreaktion fiel nach Fixation in Formalin und in Glutaraldehyd-Pikrinsäure-Acetat positiv aus, nicht jedoch nach Bouinscher Lösung. In der *Versilberung nach Grimelius* (1964) werden in den erhaltenen Antrumdrüsen bevorzugt in den tieferen Anteilen einzelne argyrophile, meist trianguläre Zellen mit schmalen Ausläufern entlang der Basalmembran dargestellt. Häufiger finden sie sich in intestinalisierten Bereichen. Der Zellform, Größe und Lokalisation nach scheinen diese Zellen weitgehend mit den Ec-Zellen identisch zu sein. In der *Versilberung nach Hellerström-Hellman* (1960) werden in den Antrumdrüsen relativ zahlreiche unterschiedlich große

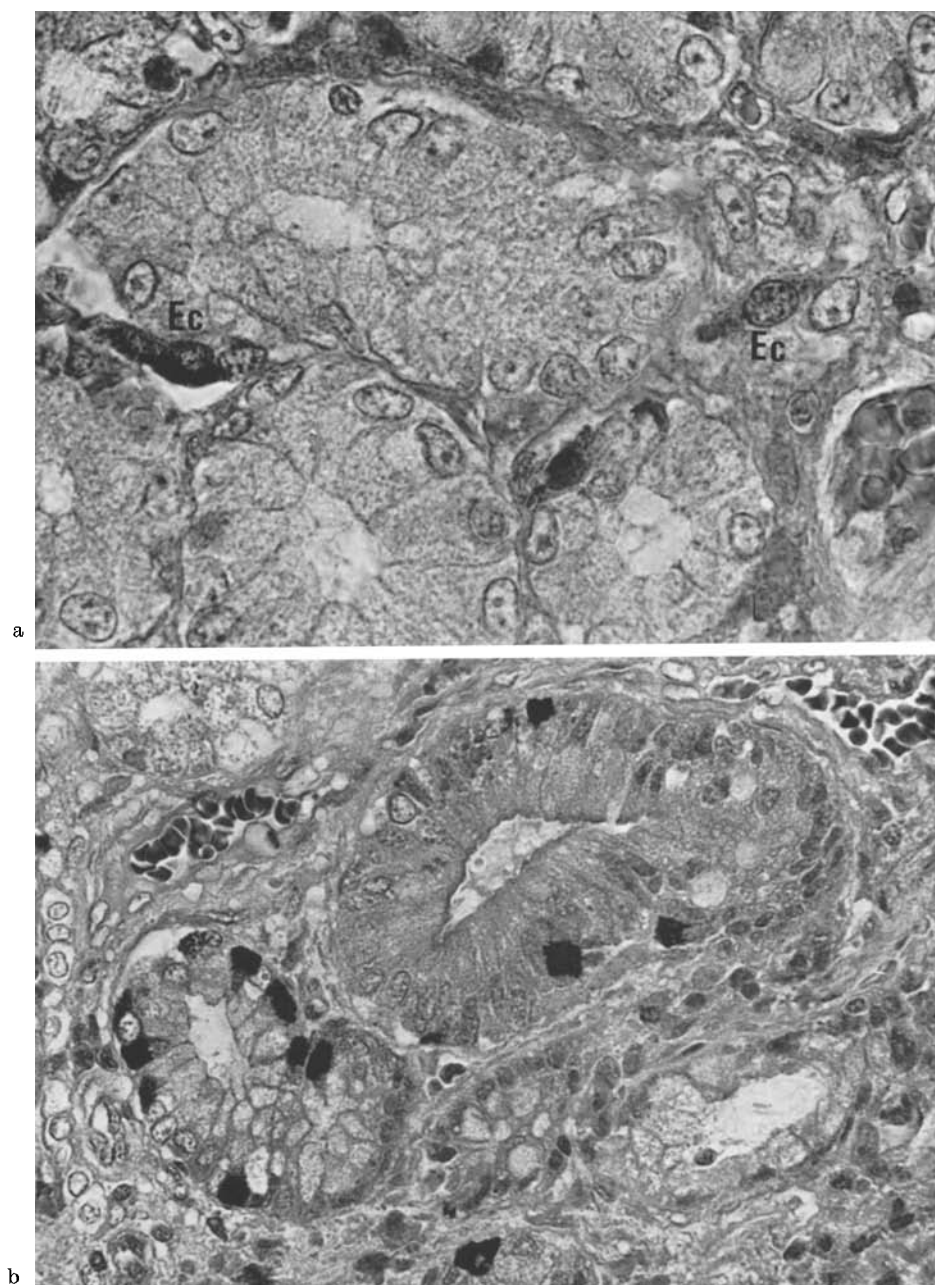


Abb. 1a u. b. S-Nr. 1348/70. Magenantrum, Fixierung in Glutaraldehyd-Pikrinsäure-Acetat. Diazoniumreaktion mit Fast Black K. a Mucoides Antrumdrüsen mit schmalen, an der Basalmembran gelegenen Ec-Zellen (*Ec*). Vergr. 1000 \times . b Intestinale Metaplasie mit zahlreichen größeren und kräftiger reagierenden Ec-Zellen. Vergr. 630 \times

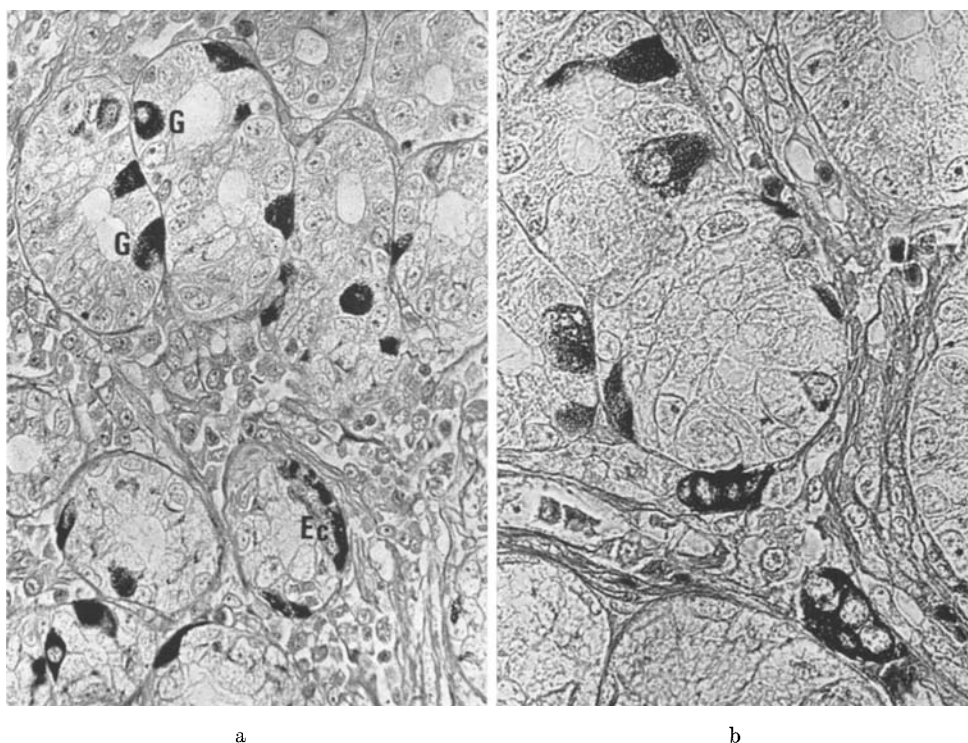


Abb. 2a u. b. Magenantrum bei Ulcus ventriculi. Fixierung in Bouin. Versilberung nach Grimelius (1968). a G-Zellen (G) in mucoiden Antrumdrüsen der oberen Bildhälfte, in den basaleren Drüsen schmale Ec-Zellen (Ec). Vergr. 630 \times (verkleinert auf $\frac{7}{9}$). b Neben großen G- und kleinen Ec-Zellen noduläre Komplexe endokriner Zellen im Interstitium. Vergr. 1000 \times (verkleinert auf $\frac{7}{9}$)

argyrophile Zellen dargestellt, die im Schleimhautniveau von der Drüsenbasis bis zu den Foveolae vorkommen und häufiger auch im mittleren Schleimhautdrittel liegen. Zum Teil entsprechen die mit dieser Versilberung dargestellten Zellen den Ec-Zellen. Daneben werden auch argyrophile non-Ec-Zellen erfaßt, die jedoch nicht zu den Gastrinzellen korreliert werden konnten. Möglicherweise handelt es sich hierbei um D-Zellen. In den Bereichen intestinaler Metaplasien werden mit dieser Versilberung gleichfalls dicht nebeneinander liegende trianguläre Zellen dargestellt.

Das Spektrum argyrophiler Zellen wird in der *Versilberung nach Grimelius* (1968) erheblich erweitert. In der erhaltenen Antrumschleimhaut lassen sich morphologisch zwei Zelltypen meist sicher differenzieren. Vorwiegend im oberen und mittleren Drittel der Antrumdrüsen liegen zahlreiche argyrophile Zellen mit diffuser feingranulärer Verteilung der Silberpräcipitate im Cytoplasma. Der relativ große Zellkern ist ausgespart. Die Zellform ist variabel, meistens ovalär bis flaschenförmig. Im Vergleich zu den benachbarten mucoiden Zellen erscheinen

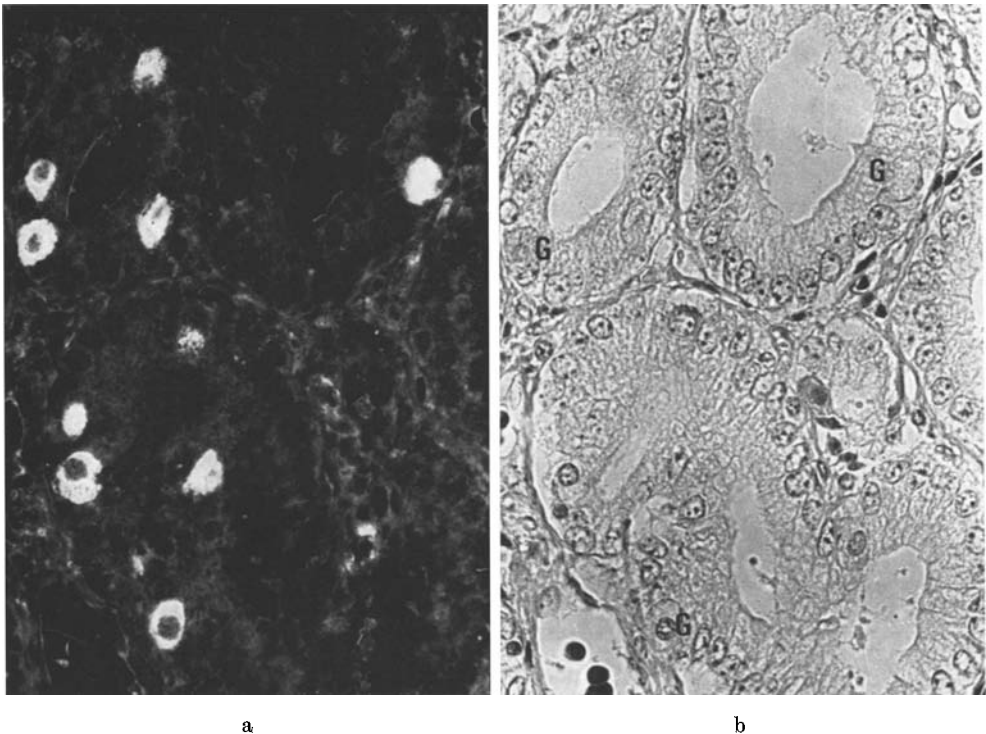


Abb. 3 a u. b. S-Nr. 1348/70. Antrumschleimhaut, Fixierung in neutralem Formalin. a Immunfluoreszenz einzelner Gastrinzellen (indirekte Methode mit Anti-Gastrinserum vom Kaninchen und FITC-markiertem Anti-Kaninchen- γ -Globulin). b Umfärbung der gleichen Stelle mit der Versilberung nach Grimelius (1968). Die Gastrinzellen stellen sich nicht argyrophil dar, sie heben sich stellenweise durch ihre Zellform von den mucoiden Drüsenzellen ab. Vergr. $630\times$ (verkleinert auf $\frac{1}{9}$)

sie teilweise größer, mit mittelständigen Zellkernen. Die Zellform wird durch den Anschnitt der Antrumdrüsen modifiziert. Häufigkeit und Lokalisation dieser G-Zellen wie auch die Größe und Lage ihrer Zellkerne entsprechen den immunhistologisch dargestellten Gastrinzellen (Abb. 2).

Eine direkte Korrelation der immunfluoreszierenden Gastrinzellen zu argyrophilen G-Zellen am gleichen Präparat konnten wir beim Menschen bisher nicht erreichen, da bei neutraler Formalinfixation die ohnehin schwächere Argyrophilie der G-Zellen nach Seruminkubation der Schnitte meistens nicht mehr sicher nachweisbar war (Abb. 3).

Überwiegend am Drüsengrund bis in das Niveau der G-Zellen reichend liegen kräftiger versilberte, kleinere Zellen mit schmalen Zellausläufern entlang der Basalmembran. Dieser Typ der argyrophilen Zellen stimmt in der Lokalisation und Zellform mit den Ec-Zellen überein.

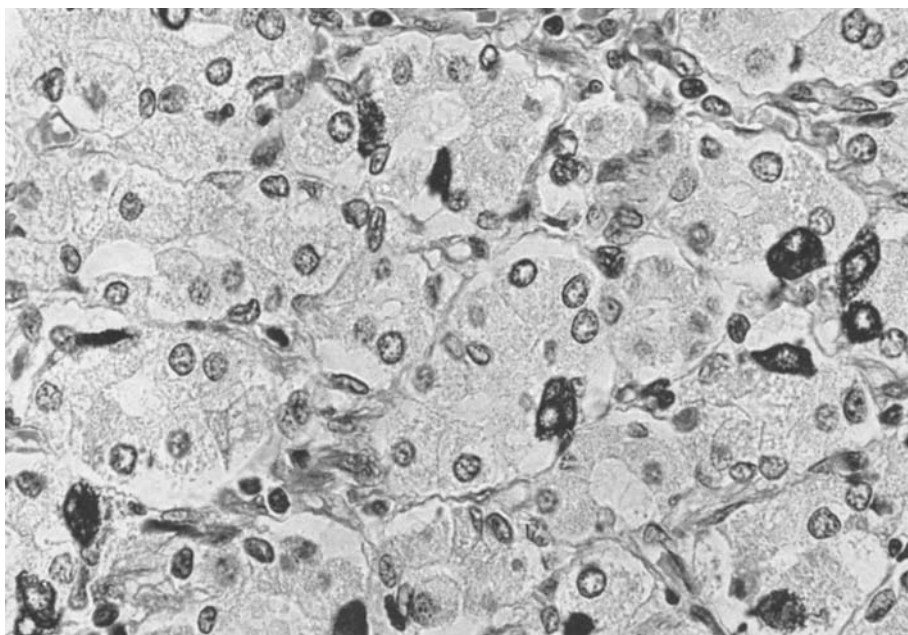


Abb. 4. S-Nr. 1037/71. Magenkorpus, Fixierung in neutralem Formalin. Versilberung nach Grimelius (1968). Die großen argyrophilen Zellen vorwiegend in der rechten Bildhälfte entsprechen vermutlich den ECL-Zellen, die kleineren den Ec-Zellen. Vergr. 630 ×

Im Magenkorpus sind mit der Versilberung nach Grimelius (1968) nicht so eindeutig zwei Zelltypen nachweisbar. Im mittleren Schleimhautniveau liegen größere, oft abgerundete und kräftig argyrophil reagierende Zellen, die vermutlich den ECL-Zellen entsprechen. Zur Schleimhauttiefe hin sind die argyrophilen Zellen kleiner und zeigen gleichfalls schmale Zellausläufer an der Basalmembran. Sie entsprechen am ehesten den Ec-Zellen (Abb. 4). In den Bereichen intestinaler Metaplasie treten mit dieser Versilberung gleichfalls zahlreiche argyrophile Zellen auf.

Für die Versilberung nach Grimelius (1968) ist die Fixierung in Bouinscher Lösung optimal. Schwach positive Ergebnisse waren auch nach Fixierung in neutralem Formalin nachweisbar. Nach gepuffertem Glutaraldehyd oder nach Hellyscher Lösung fiel die Reaktion meist negativ aus.

Mit der *Bleihämatoxylinreaktion* werden zahlreiche Zellen erfaßt, die sich argyrophil in der Silbernitratreaktion nach Grimelius (1968) verhalten. In den Antrumdrüsen finden sich vorwiegend in den mittleren Drüsenbereichen große, zartblau granulierte Zellen mit variabler Zellform (Abb. 5). Die Lokalisation und Häufigkeit dieser Zellen entspricht den Gastrin- oder G-Zellen. Daneben stellen sich in den basalen Drüsenabschnitten kleinere, kräftiger blauschwarz tingierte Zellen dar, deren Verteilung und Zellform denen der Ec-Zellen entspricht. Gleichartige Zellen finden sich auch in den Korpusdrüsen, bevorzugt

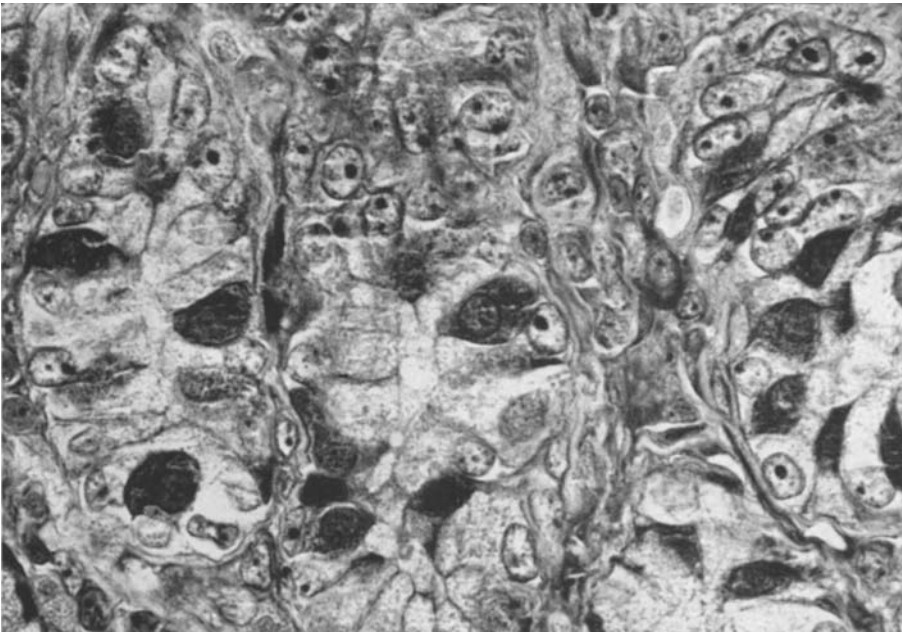


Abb. 5. Magenantrum bei Ulcus duodeni. Fixierung in Glutaraldehyd-Pikrinsäure-Acetat. Bleihämatoxylinreaktion. Zahlreiche G-Zellen neben einzelnen kleineren Ec-Zellen. Vergr. 1000×

im unteren Schleimhautdrittel. Am Grund instestinalisierter Bereiche stellen sich wieder gehäuft pyramidale blauschwarz gefärbte Zellen mit retronucleär dicht gelagerten Granula dar.

Die G-Zellen reagieren in der Bleihämatoxylinreaktion am intensivsten nach Glutaraldehydfixierung, schwächer nach Formalinfixierung und kaum nach Fixierung in Bouinscher Lösung. Eine kräftige Darstellung der G- und Ec-Zellen sieht man auch nach Fixierung in Helyscher Lösung, wobei sich die endokrinen Zellen in den Bereichen intestinaler Metaplasie blauschwarz nachweisen lassen.

In der *Pseudoisocyaninreaktion nach Säurehydrolyse* stellen sich zahlreiche Zellen mit unterschiedlicher Zellform und differenter Farbnuancierung von blau bis rotviolett dar. Diese entsprechen teilweise den Ec- und den G-Zellen. Daneben reagieren Zellen, deren Lokalisation nicht für G-Zellen und deren Form nicht für Ec-Zellen charakteristisch ist und die als D-Zellen bezeichnet werden (Solcia *et al.*, 1970) (Abb. 6). Die *maskierte Alcianophilie* zeigt schwach blau gefärbte große G-Zellen und kleinere, kräftiger reagierende Ec-Zellen. Mit Toluidinblau nach Säurehydrolyse konnte nach Anwendung mehrerer Farbstoffchargen nur teilweise eine positive Metachromasie besonders der G-Zellen beobachtet werden.

Mit *Aldehydfuchsin* werden endokrine Zellen dargestellt, deren Form und Lokalisation am ehesten den G-Zellen entspricht. Diese Reaktion fällt nach kurzer Oxydation, abgeschwächt auch nach kurzer Säurehydrolyse positiv aus.

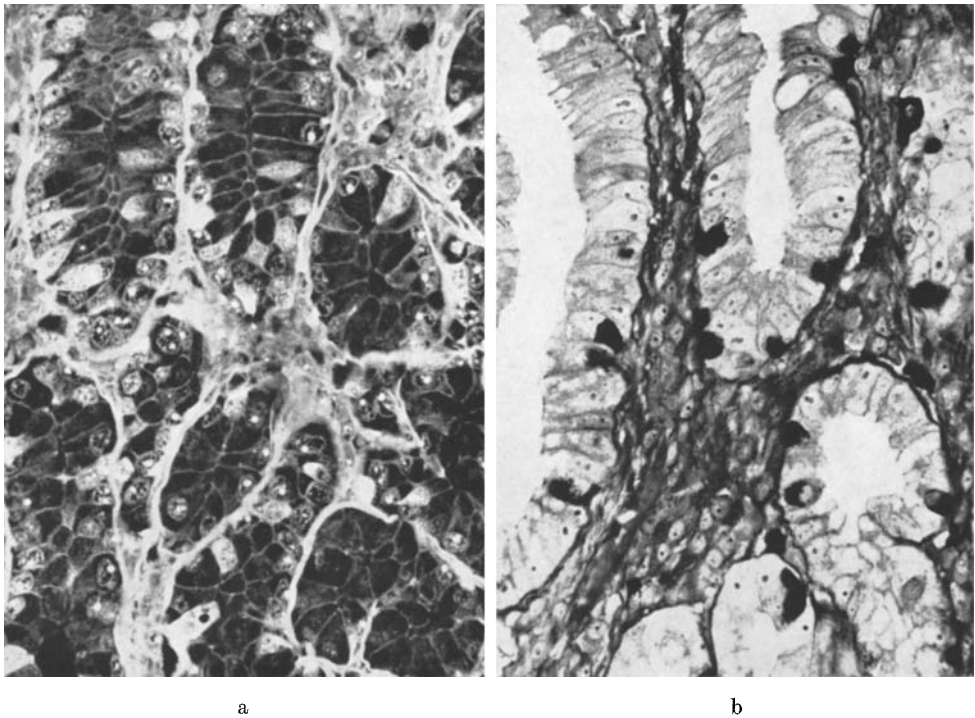


Abb. 6. a Magenantrum bei Ulcus ventriculi. Fixierung in Glutaraldehyd-Pikrinsäure-Acetat. Pseudoisocyaninfluorescenz nach Säurehydrolyse. Zahlreiche schwach fluoreszierende endokrine Zellen, vorwiegend G-Zellen. Vergr. $630\times$. b J-Nr. 11958/70. Magenantrum bei Magenkarzinom. Fixierung in Glutaraldehyd-Pikrinsäure-Acetat. Pseudoisocyanin nach Säurehydrolyse. Zahlreiche kräftig reagierende metachromatische endokrine Zellen, vermutlich vorwiegend D-Zellen. Vergr. $630\times$

2. Vergleichende Befunde bei Gastritis, Ulcus und Carcinom

Bei chronischer Gastritis, die in ihrer Ausprägung von einer partiell-atrophischen bis zur chronisch-atrophischen *Gastritis* mit teilweise ausgedehnter intestinaler Metaplasie reichte, kommt es mit fortschreitender Vertiefung der Foveolae und Reduzierung der mucoiden Antrumdrüsen zu einer Verlagerung der Gastrinzellen im Schleimhautniveau. Während in der Regel die G-Zellen gehäuft im oberen und mittleren Dritten der Antrumdrüsen liegen, sind sie bei zunehmender Atrophie auch bis zur Basis der Antrumdrüsen nachweisbar. Die G-Zellen zeigen eine ausgesprochen herdförmige Häufung, wobei einzelne Antrumdrüsen völlig frei von G-Zellen sein können. Am ausgeprägtesten war die Reduzierung der G-Zellen bei atrophischer Gastritis mit intestinaler Metaplasie. Die Ec-Zellen zeigen ein gegensätzliches Verhalten in der Gruppe der Gastritiden und über treffen zahlenmäßig teilweise deutlich die G-Zellen.

Neben einer Zunahme der Ec-Zellen in den Antrumdrüsen werden in den Bereichen intestinaler Metaplasie besonders zahlreiche endokrine Zellen beobachtet,

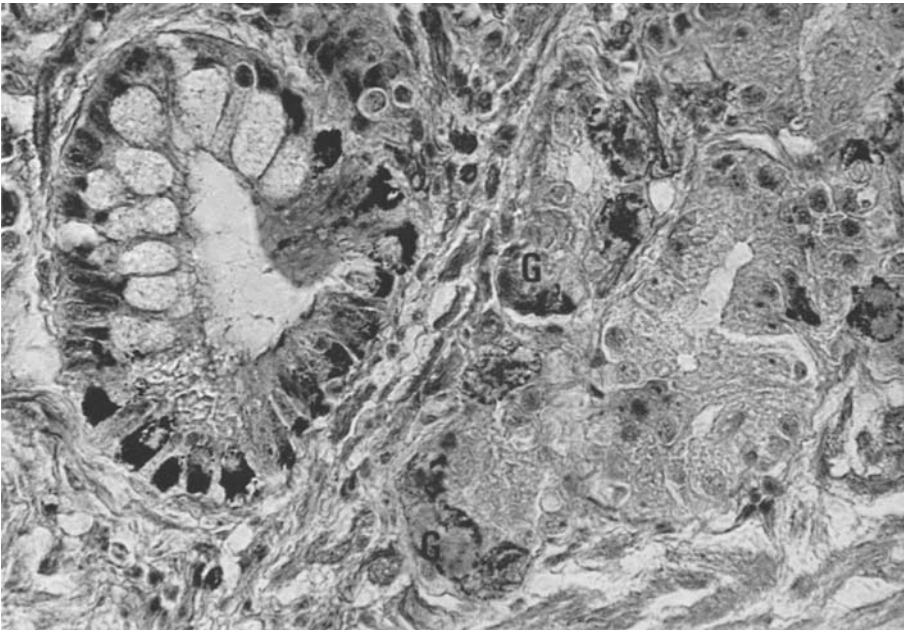


Abb. 7. J-Nr. 16665/71. Chronisch-atrophische Gastritis mit ausgedehnter intestinaler Metaplasie neben einem hochdifferenzierten polypösen Adenocarcinom des Magenkorpus bei perniziöser Anämie. Formalinfixierung. Versilberung nach Grimelius (1968). Korpusschleimhaut mit intestinaler Metaplasie und zahlreichen Ec-Zellen. Die pseudopylorischen Drüsen enthalten große, schwach argyrophile Zellen, die am ehesten den Fundus-G-Zellen entsprechen. Vergr. 630 \times

die sich cytochemisch wie Ec-Zellen verhalten. Sie sind unmittelbar benachbart an der Drüsenbasis gelegen. Stellenweise zeigen die Ec-Zellen das Phänomen der Endophytie mit Ausknospfung in die Lamina propria und liegen im Interstitium in nodulären Komplexen angeordnet. In den metaplastischen Bereichen sind dagegen weder cytochemisch noch immunhistologisch Gastrinzellen nachweisbar.

Bei *Ulcus ventriculi* fand sich in Beziehung zur Ausprägung der Gastritis eine Vermehrung der endokrinen Zellen, die gelegentlich kleine noduläre Komplexe im Interstitium bildeten und häufiger auch in höheren Drüsenabschnitten vorkamen. Sie entsprechen am ehesten den Ec-Zellen, möglicherweise auch den ECL-Zellen. Die Gastrinzellen zeigten keine auffällige Veränderung. Lediglich bei fortgeschrittener Schleimhautatrophie war eine Reduzierung der non-Ec-Zellen feststellbar.

Bei *Ulcus duodeni* waren in allen Fällen sehr zahlreiche G-Zellen nachweisbar. Diese lagen in dichteren Zellverbänden oft benachbart, so daß häufig der Eindruck einer durchgehenden Zone endokriner Zellen im mittleren Schleimhautdrittel gegeben war. In den basalen Schleimhautbereichen lagen gleichfalls zahl-

reiche Ec-Zellen. Dieses Verhalten der endokrinen Zellen war um so auffälliger, da im Antrum der Mägen bei *Ulcus duodeni* oft auch eine chronische Gastritis mit partieller Schleimhautatrophie, vereinzelt auch eine Umbaugastritis bestand.

Bei den *Magencarcinomen* war kein einheitliches Verhalten der endokrinen Zellen nachweisbar. Das zahlenmäßige Verhalten korrelierte am ehesten zur Ausprägung einer chronischen Gastritis. Eine Ausnahme machte lediglich die Schleimhaut neben einem hochdifferenzierten Adenocarcinom bei perniziöser Anämie, die entsprechend der fortgeschrittenen intestinalen Metaplasie eine erhebliche Vermehrung der Ec-Zellen zeigte, die sowohl argyrophil wie auch Diazonium-positiv reagierten. Daneben waren im Korpusbereich in mucoiden pseudopylorischen Drüsen zahlreiche große Zellen nachweisbar, die sich cytochemisch wie G-Zellen verhielten (Abb. 7).

Eine quantitative Erfassung der endokrinen Zelltypen wird durch die herdförmige Verteilung dieser Zellen erschwert. Daneben ergeben sich unterschiedliche Verteilungsmuster in einem Magen in Abhängigkeit von der Lokalisation und Ausprägung einer chronischen Gastritis.

Diskussion

Bis 1965 wurden in der Magenschleimhaut zwei Zellsysteme mit vermutlich endokriner Aktivität unterschieden, die enterochromaffinen, argentaffinen Zellen und die Gruppe der argyrophilen Zellen, die im wesentlichen mit der Methodik nach Bodian (Hamperl, 1952) und in ihren Modifikationen dargestellt wurden (Singh, 1964b). Mit seiner Methode der Versilberung zeigte Singh (1966, 1967), daß in den argentaffinen Zellen auch rein argyrophil reagierende Granula nachweisbar waren, die bevorzugt supranucleär lagen. Wie auch Erspamer (1954, zit. nach Hardmeier und Hedinger, 1963) und Hamperl (1952) beschreibt Singh (1967) einen Funktionscyclus der argyrophil-argentaffinen Zellen, wofür funktionelle Untersuchungen nach Reserpin (Singh, 1967) sprechen. Für die Argyrophilie ist ein Lipoprotein als Carrier oder Träger verantwortlich (Singh, 1967). Eine vorwiegend argyrophile Zelle ist demnach gleichbedeutend mit größerer funktioneller Aktivität, während bei positiver argentaffiner Reaktion eine stärkere 5-Hydroxytryptaminspeicherung vorliegen soll.

Der Nachweis eines hyperglykämisch-glykogenolytischen Faktor im Magen und Duodenum durch Sutherland *et al.* (1949) veranlaßte Fodden (1953), die Beziehungen zwischen enterochromaffinen Zellen im Magen-Darmtrakt und den Pankreas-A-Zellen zu untersuchen. Er fand mit den derzeitigen A-Zellfärbungen keine positiven Reaktionen an den enterochromaffinen Zellen; ferner bestanden Unterschiede in der Reaktion auf A-Cytotoxine, die die argentaffinen Zellen unbeeinflusst ließen. Davis (1954) konnte im Fundus des Kaninchenmagens mit der Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin- und mit der Methylgrün-Phloxin-Reaktion einzelne Zellen darstellen, die sich wie Pankreas-A-Zellen verhielten. Er bezeichnete diese Zellen, die etwa 1—2% der Funduszellen ausmachten, als X-Zellen. Nach A-Cytotoxinen (Synthalin A) waren histologisch keine Veränderungen der X-Zellen nachweisbar. Weitergehende Parallelen zwischen den non-B-Zellen der Pankreasinseln und endokrinen Zellen des Magens beschrieben

Solcia *et al.* (1965). Aufgrund einer positiven Lumineszenz im Dunkelfeld bestätigte er die Beziehung insulärer A-Zellen zu endokrinen Funduszellen. Ferner vermutete er, daß die Gastrinproduktion in endokrinen Antrumzellen erfolgte, die sich cytochemisch wie Pankreas-D-Zellen verhielten. Diese wurden durch eine argyrophile Reaktion nach Hellerström-Hellman und eine Metachromasie basischer Farbstoffe nach Methylierung und Verseifung dargestellt. Die Ec-Zellen bildeten eine davon abgrenzbare Zellgruppe, die durch positive Reduktionsreaktionen und durch die Diazoniumreaktion gekennzeichnet war. Nach Synthalin A traten keine histologischen Veränderungen der Fundus-A-Zellen (A-like-cell) auf.

Das Phänomen der Metachromasie zur Darstellung endokriner Zellen nach Methylierung und Verseifung wurde von Solcia *et al.* (1968) und von Bussolati *et al.* (1969) eingehend untersucht. Den eigentlich wirksamen Mechanismus stellt die Säurehydrolyse dar, deren Wirkung in der Extraktion saurer Substanzen (RNS, DNS, saure Mucopolysaccharide) besteht, ferner in einer Demaskierung von Carboxylseitengruppen durch eine Konversion von Carboxamido in Carboxylgruppen und in einer Freisetzung labiler Bindungen von Polypeptidketten und damit Änderung der Sekundärstruktur. Mit der maskierten Metachromasie oder maskierten Fluoreszenz ließen sich Sekretgranula zahlreicher endokriner Zellen darstellen. Dieses Verfahren ermöglichte auch eine weitere Differenzierung der Ec- und nicht -Ec-Zellen. Die Basophilie der Ec-Zellen wie auch des Nebennierenmarks wird von Geyer (1968) durch ein Protein mit zahlreichen Carboxylseitengruppen erklärt, das er auch nach 5-Hydroxytryptaminextraktion mit der Carbodiimidreaktion nachweisen konnte. Dieses Trägerprotein geht eine Bindung mit Lipiden, ATP und biogenen Aminen ein.

Eine weitere Methodik zur Darstellung endokriner Zellen wurde von Solcia *et al.* (1969a) angegeben. Die Bleihämatoxylinreaktion, modifiziert nach Mac Conaill, zeigte einen weitgehend gleichen Reaktionsausfall wie die maskierte Metachromasie und die Versilberung nach Grimelius (1968), so daß auch hierbei an eine Reaktion mit Carboxylseitengruppen gedacht wurde. Mit diesen Methoden wurden bei zahlreichen Tierspecies und beim Menschen mehrere endokrine Zelltypen im Magen-Darmtrakt beschrieben (Coalsen, 1969; Solcia *et al.*, 1969b, 1970b; Vasallo *et al.*, 1969; Pearse *et al.*, 1970b). Eine Differenzierung der non-Ec-Zellen war teilweise nur elektronenmikroskopisch unter Berücksichtigung der spezifischen Granulum-Hypothese (Forssmann *et al.*, 1969) und der Topographie der unterschiedlichen Zelltypen in Beziehung zu biochemisch nachgewiesenen hormonalen Aktivitäten möglich.

Die G-Zelle mit vermuteter Gastrinsekretion wurde erstmals von Solcia *et al.* (1967) definiert. Sowohl mit der Versilberung nach Bodian (Grimelius, 1964), wie auch nach Hellerström-Hellman (1960) wurden im Antrum zahlreicher Species argyrophile Zellen dargestellt. Diese argyrophilen non-Ec-Zellen wurden den argyrophil-argentaaffinen und zugleich Diazonium-positiven Zellen gegenübergestellt. Durch die Versilberung nach Grimelius (1968) wurde das Spektrum argyrophiler Zellen erheblich erweitert und damit die G-Zelle als Gastrinzelle neu definiert. Beim Menschen wurden erstmals mit dieser Methode die Gastrinzellen dargestellt, die mit den älteren Methoden (Grimelius, 1964; Hellerström-

Hellman, 1960) nicht erfaßt werden konnten. Neben der Argyrophilie nach Grimelius (1968) zeigt die G-Zelle eine positive Bleihämatoxylinreaktion und maskierte Metachromasie (Pearse *et al.*, 1970b), ferner eine positive Aldehydfuchsinreaktion (Polak *et al.*, 1971a). Argyrophilie, Bleihämatoxylinreaktion und maskierte Metachromasie fallen an der G-Zelle schwächer aus als an den gleichzeitig dargestellten Ec- und zum Teil D-Zellen. Die cytochemisch definierte G-Zelle ist nach bisherigen Untersuchungen auf das Antrum beschränkt und dort beim Menschen der häufigste Zelltyp (Pearse *et al.*, 1970b). Sie ist bevorzugt im mittleren Schleimhautdrittel und damit oberflächlicher als die Ec-Zellen lokalisiert (Solcia *et al.*, 1970b). Dieser Verteilung entspricht auch die immunhistologische Lokalisation der Gastrinzellen (McGuigan, 1968; Bussolati *et al.*, 1970; Pearse *et al.*, 1970a; Creutzfeld *et al.*, 1971; Mitschke, 1971).

Die argentaffinen und zugleich deutlich argyrophilen *Ec-Zellen* mit positiver Diazonium- und Bleihämatoxylinreaktion sowie maskierter Metachromasie und Formaldehyd-induzierter Fluoreszenz finden sich allgemein häufiger im Duodenum als im Magen. Beim Menschen sind sie jedoch nicht der häufigste endokrine Zelltyp im Duodenum (Pearse *et al.*, 1970b). Die Verteilung variiert bei den verschiedenen Species. Beim Menschen liegen sie in den basalen Drüsenabschnitten und kommen im Antrum häufiger vor als im Korpus (Vasallo *et al.*, 1971).

Davon abzugrenzen sind die gleichfalls argyrophilen *ECL-Zellen* in der Methodik nach Sevier-Munger und nach Grimelius (1968) (Solcia *et al.*, 1970b; Capella *et al.*, 1971), die im Fundus zahlreicher Tierspecies und auch beim Menschen vorkommen und die bei der Ratte und Maus den von Hakanson *et al.* (1969) beschriebenen Enterochromaffin-ähnlichen entsprechen (Capella *et al.*, 1971). Sie kommen im Gegensatz zu den Ec-Zellen im Korpus häufiger vor als im Antrum (Vassallo *et al.*, 1971).

Die *X- oder D-Zelle* mit maskierter Metachromasie und vermutlich auch positiver Argyrophilie nach Hellerström-Hellman (Solcia *et al.*, 1971) zeigt bei den Species eine sehr variable Verteilung. Beim Menschen ist sie der zweithäufigste Zelltyp im Antrum (Pearse *et al.*, 1970b). Sie kommt beim Menschen wie auch bei der Katze häufiger im Antrum als im Korpus vor (Solcia *et al.*, 1970b; Vasallo *et al.*, 1971).

Ein weiterer endokriner Zelltyp, die *Fundus-A-Zelle* kann mit der Versilberung nach Grimelius (1968) und mit der Phosphorwolframsäure-Hämatein-Reaktion im Magenkorpus und Intestinum bei Hund, Katze und Kaninchen nachgewiesen werden. Beim Menschen, Schwein und Meerschweinchen kommt dieser Zelltyp im Magen nicht vor (Solcia *et al.*, 1970b).

Die stets wiederkehrende Reaktion der maskierten Metachromasie in Verbindung mit der Aufnahme und Decarboxylierung von DOPA und der hohe Gehalt dieser Zellen an Cholinesterasen (Carvalho *et al.*, 1968) und Phosphoglyceratdehydrogenasen veranlaßte Pearse (1969), die polypeptidhormonbildenden Zellen zum APUD-System zusammenzufassen. Es besaßen direkte Beziehungen der Cholinesterasereichen Zellen (Carvalho *et al.*, 1968) zur Histamin-enthaltenden Zelle (Thunberg, 1967) und zu den Ec-like-cells von Hakanson *et al.* (1970).

Eine selektive Methode zur Lokalisation eines endokrinen Zelltyps stellt die Immunhistologie mit spezifischen Antisera dar. Die Ergebnisse über die Cytologie und Lokalisation der Gastrinzellen beim Menschen stimmen überein (McGuigan, 1968; McGuigan *et al.*, 1972; Pearse *et al.*, 1970a; Creutzfeldt *et al.*, 1971; Mitschke, 1971; Polak *et al.*, 1971c). Eine Korrelation der Gastrinzellen zur cytochemisch definierten G-Zelle hat jedoch besonders bei Anwendung argyrophiler Methoden widersprüchliche Befunde ergeben. An der Magenschleimhaut des Menschen wurden die immunfluoreszierenden Gastrinzellen mit keiner Methode der Versilberung oder mit der Bleihämatoxylinreaktion bisher ungefärbt (Mitschke, 1971; McGuigan *et al.*, 1972). In einer ausführlichen vergleichenden Untersuchung beim Schwein wiesen McGuigan und Greider (1971) nach, daß sich die Gastrinzellen weder mit der Versilberung nach Grimelius (1964), nach Bodian, Sevier-Munger, Hellerström-Hellmann oder Goldner-Volk darstellten. Es wurden sowohl Formalin- als auch Bouin-fixierte Schnitte mit FITC- oder Peroxydase-markierten Antikörpern inkubiert. Sie unterscheiden hiernach mindestens drei endokrine Zelltypen im Antrum:

Die *Gastrinzelle*, die *rein argyrophile Zelle* und die *argentaffin-argyrophilen Zellen mit Formaldehyd-induzierter Fluoreszenz*, die den Ec-Zellen entsprechen. Pearse und Bussolati (1972) konnten dagegen beim Hund und Schwein eine positive Korrelation der Gastrinzellen zur Versilberung nach Grimelius (1968) und zur Bleihämatoxylinreaktion bei Nachfixation der Schnitte nachweisen. Die Gastrinzellen reagierten in beiden Methoden deutlich schwächer als die Ec-Zellen. Die negativen Befunde beim Menschen beruhen vermutlich darauf, daß die Argyrophilie der G-Zellen nach Grimelius (1968) beim Menschen schwächer ausfällt als bei den meisten Tierspecies. Sie ist ferner weniger kräftig nach Fixierung in neutralem Formalin als nach Bouinscher Lösung, so daß nach vorangehender Seruminkubation auch bei einer Nachfixierung eine Argyrophilie der G-Zellen nicht sicher nachweisbar ist.

Das Verhalten der Gastrinzellen und der verschiedenen endokrinen Zelltypen wurde mit der Immunhistologie sowie mit der Cytochemie und Elektronenmikroskopie bei verschiedenen pathologischen Veränderungen der Magenschleimhaut untersucht. Neben gastrointestinalen Erkrankungen wie chronischer Gastritis, Ulcus ventriculi und duodeni sowie Magencarcinom sind die Schleimhautveränderungen bei perniziöser Anämie und bei Endokrinopathien mit Beeinflussung der Schleimhaut und Sekretion des Magens von Interesse (z. B. Hyperparathyreoidismus, Akromegalie, Carcinoid- und Zollinger-Ellison-Syndrom). Schon frühzeitig wurde auf quantitative Veränderungen der argyrophilen Zellen (nach Bodian) bei verschiedenen pathologischen Veränderungen des Magen-Darmtraktes hingewiesen (Hamperl, 1927, 1952; Safar, 1950). Zur Beurteilung quantitativer Veränderungen sind nach McGuigan (1970) Magenbiopsien nicht repräsentativ, da bei der herdförmigen Häufung endokriner Zellen zur Erfassung einer Hyperplasie oder Verringerung der Zellzahl größere Präparate resezierter Mägen erforderlich sind. Es erscheint fragwürdig, die hormonale Sekretionsleistung einzelner Zellen mit cytochemischen Methoden zu erfassen, da z. B. die maskierte Metachromasie ein Trägerprotein oder die Argyrophilie ein Membraneiweiß (Carvalho *et al.*, 1968) erfaßt. Auch die Immunocytochemie halten

Creutzfeldt *et al.* (1971) für ungeeignet, quantitative Aussagen über den intracellulären Hormongehalt zu machen.

In Übereinstimmung mit anderen Autoren (Pearse *et al.*, 1970b; Solcia *et al.*, 1970a) fanden wir sehr zahlreiche G-Zellen bei Ulcus duodeni. Bei Hyperacidität und Ulcus duodeni sind die G-Zellen oder auch Gastrinzellen eher vermehrt und in der maskierten Metachromasie nur schwach granuliert (Pearse *et al.*, 1970b). Lorenz-Meyer *et al.* (1971) wiesen bei Ulcus duodeni eine Vermehrung argyrophiler Zellen in der Methodik nach Davenport nach, bei atrophischer Gastritis eine Verminderung in Abhängigkeit von der Parietalzellzahl und der Säuresekretion; ausgenommen waren Mägen mit schwerer atrophischer Gastritis und intestinaler Metaplasie, die sehr zahlreiche argyrophile Zellen enthielten. Die Deutung dieser Zellen als G-Zellen erscheint fragwürdig, da die Versilberung nach Davenport die G-Zellen nicht erfaßt (Solcia *et al.*, 1971) und nach eigenen Befunden wie auch nach anderen Autoren (Polak *et al.*, 1971c) die intestinalisierten Bereiche keine Gastrinzellen enthalten. Weniger charakteristisch ist das Verhalten der endokrinen Zellen bei Ulcus ventriculi und bei Magencarcinom, wobei die Veränderungen eher vom Ausmaß der Gastritis bestimmt werden. Bei Magencarcinom werden voll granuliert G-Zellen in der maskierten Metachromasie beschrieben (Pearse *et al.*, 1970b).

Bei perniziöser Anämie mit chronisch-atrophischer Gastritis wurde eine Proliferation endokriner Zellen nachgewiesen (Rubin, 1969). In Übereinstimmung mit deutlich erhöhten Serumgastrinspiegeln (McGuigan und Trudeau, 1970) fand sich eine Vermehrung der G- oder Gastrinzellen mit schwacher Immunfluoreszenz und cytochemisch weitgehender Degranulierung. Daneben waren hierbei auch G-Zellen in pseudopylorischen Drüsen des Magenkorpus nachweisbar, wo normalerweise keine Gastrinzellen vorkommen (Polak *et al.*, 1971c; Creutzfeldt *et al.*, 1971).

Beim Hyperparathyreoidismus wird gleichfalls eine Vermehrung der G-Zellen mit gesteigerter sekretorischer Aktivität beobachtet (Polak *et al.*, 1971a; Creutzfeldt *et al.*, 1971). Für einen trophischen Effekt des Wuchshormons auf die G-Zelle spricht die G-Zellhyperplasie bei Akromegalie (Pearse *et al.*, 1970a; Creutzfeldt *et al.*, 1971).

Literatur

- Bussolati, G., Pearse, A. G. E.: Immunofluorescent localization of the gastrin-secreting cells in the pyloric antrum of the pig. *Histochemie* **21**, 1—4 (1970).
- Bussolati, G., Rost, F. W. D., Pearse, A. G. E.: Fluorescence metachromasia in polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and its significance in relation to the structure of the precursor protein. *Histochem. J.* **1**, 517—530 (1969).
- Capella, C., Vassallo, G., Solcia, E.: Light and electron microscopic identification of the histamine-storing argyrophil (ECL) cell in murine stomach and its equivalent in other mammals. *Z. Zellforsch.* **118**, 68—84 (1971).
- Carvalho, A. F., Welsch, U., Pearse, A. G. E.: Cytochemical and ultrastructural observations on the argentaffin and argyrophil cells of the gastrointestinal tract in mammals, and their place in the APUD series of polypeptide-secreting cells. *Histochemie* **14**, 33—46 (1968).
- Coalson, R. E.: Localization of carboxyl groups in gastric mucosa as possible sites of gastrin. *Z. Zellforsch.* **101**, 241—253 (1969).

- Creutzfeldt, E. (Ed.): Origin, chemistry, physiology and pathophysiology of the gastrointestinal hormones. International Symposium Wiesbaden. Stuttgart-New York: Schattauer 1970.
- Creutzfeldt, W., Arnold, R., Creutzfeldt, C., Feurle, G., Ketterer, H.: Gastrin and G-cells in the antral mucosa of patients with pernicious anaemia, acromegaly, and hyperparathyroidism and in a Zollinger-Ellison tumour of the pancreas. *Europ. J. clin. Invest.* **1**, 461—479 (1971).
- Davis, J. C.: The relation between the pancreatic alpha cells and certain cells in the gastric mucosa. *J. Path. Bact.* **67**, 237—240 (1954).
- Erspamer, V., Asero, B.: Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature (Lond.)* **169**, 800—801 (1952).
- Fodden, J., H.: The enterochromaffin and pancreatic alpha cell — a comparison. *Amer. J. clin. Path.* **23**, 994—998 (1953).
- Forssmann, W. G., Orci, L., Pictet, R., Renold, A. E., Roullier, Ch.: The endocrine cells in the epithelium of the gastrointestinal mucosa of the rat. An electron microscope study. *J. Cell Biol.* **40**, 692—715 (1969).
- Geyer, G.: Histochemischer Nachweis von Carboxylgruppen mit der Carbodiimidreaktion. *Acta histochem. (Jena)* **19**, 73—77 (1964).
- Geyer, G.: Zum Nachweis eines sauren Proteins in enterochromaffinen Zellen. *Acta histochem. (Jena)* **31**, 219—221 (1968).
- Grimelius, L.: A modified silver protein method for studying the argyrophil cells of the islets of Langerhans. In: The structure and metabolism of the pancreatic islets, vol. 3. Oxford: Pergamon Press 1964.
- Grimelius, L.: A silver nitrate stain for α_1 -cells in human pancreatic islets. *Acta Soc. Med. upsalien.* **73**, 243—270 (1968).
- Hakanson, R., Lindstrand, K., Nordegen, L., Owman, Ch.: Histamine-containing epithelial cells in rat stomach: A possible storage site for the intrinsic factor. *Europ. J. Pharmacol.* **8**, 315—325 (1969).
- Hakanson, R., Owman, Ch., Sjöberg, N.-O., Sporrong, B.: Amine mechanisms in enterochromaffin and enterochromaffin-like cells of gastric mucosa in various mammals. *Histochemie* **21**, 189—220 (1970).
- Hamperl, H.: Über die ‚gelben (chromaffinen)‘ Zellen im gesunden und kranken Magendarm-schlauch. *Virchows Arch. Path. Anat.* **266**, 509—548 (1927).
- Hamperl, H.: Über argyrophile Zellen. *Virchows Arch. path. Anat.* **321**, 482—507 (1952).
- Hardmeier, Th., Hedinger, Ch.: Normale und pathologische Anatomie des argentaffinen Systems des menschlichen Magendarmtraktes. *Schweiz. med. Wschr.* **93**, 743—751 (1963).
- Hellerström, C., Hellman, B.: Some aspects of silver impregnation of the islets of Langerhans in the rat. *Acta endocr. (Kbh.)* **35**, 518—532 (1960).
- Lorenz-Meyer, H., Menge, H., Bloch, R., Schmidt, H. A., Troidl, H., Rohde, H., Riecken, E. O.: Cytochemische Identifizierung der ‚endokrinen‘ Zellen des Magens. Prüfung ihrer Beziehung zur Parietalzellzahl und H^+ -Sekretion unter normalen und pathologischen Bedingungen. *Klin. Wschr.* **49**, 634—644 (1971).
- McGuigan, J. E.: Gastric mucosal intracellular localization of gastrin by immunofluorescence. *Gastroenterology* **55**, 315—327 (1968).
- McGuigan, J. E.: On antibodies to gastrin: concerning their production, behavioral characteristics, and uses. *Gut* **11**, 363—367 (1970).
- McGuigan, J. E., Greider, M. H.: Correlative immunochemical and light microscopic studies of the Gastrin cell of the antral mucosa. *Gastroenterology* **60**, 233—236 (1971).
- McGuigan, J. E., Greider, M. H., Grawe, L.: Staining characteristics of the gastrin cell. *Gastroenterology* **62**, 959—969 (1972).

- McGuigan, J. E., Trudeau, W. L.: Serum gastrin concentrations in pernicious anemia. *New Engl. J. Med.* **282**, 358—360 (1970).
- Mitschke, H.: Vergleichende immunhistologische und cytochemische Untersuchungen der Gastrinzellen beim Menschen. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **353**, 347—359 (1971).
- Pearse, A. G. E.: The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. *J. Histochem. Cytochem.* **17**, 303—313 (1969).
- Pearse, A. G. E., Bussolati, G.: Immunofluorescence studies of the distribution of gastrin cells in different clinical states. *Gut* **11**, 646—648 (1970a).
- Pearse, A. G. E., Bussolati, G.: The identification of gastrin cells as G-cells. *Virchows Arch. Abt. A* **355**, 99—104 (1972).
- Pearse, A. G. E., Coulling, I., Weavers, B., Friesen, S.: The endocrine polypeptide cells of the human stomach, duodenum and jejunum. *Gut* **11**, 649—658 (1970b).
- Polak, J. M., Bussolati, G., Pearse, A. G. E.: Cytochemical, immunofluorescence and ultrastructural investigations on the antral G cells in hyperparathyroidism. *Virchows Arch. Abt. B* **9**, 187—197 (1971a).
- Polak, J. M., Coulling, I., Bloom, S., Pearse, A. G. E.: Immunofluorescent localization of secretin and enteroglucagon in human intestinal mucosa. *Scand. J. Gastroent.* **6**, 739—744 (1971b).
- Polak, J. M., Coulling, I., Doe, W., Pearse, A. G. E.: The G-cells in pernicious anaemia. *Gut* **12**, 319—323 (1971c).
- Ratzenhofer, M., Leb, D.: Über die Feinstruktur der argentaffinen und der anderen Erscheinungsformen der 'Hellen Zellen' Feyrter's im Kaninchenmagen. *Z. Zellforsch.* **67**, 113—150 (1965).
- Rubin, W.: Proliferation of endocrine-like(enterochromaffin) cells in atrophic gastric mucosa. *Gastroenterology* **57**, 641—648 (1969).
- Safar, P.: Über die argyrophilen Epithelzellen der menschlichen Magenschleimhaut. *Frankfurt. Z. Path.* **61**, 371—385 (1950).
- Singh, J.: On argyrophile and argentaffin reactions in individual granules of enterochromaffin cells of the human gastro-intestinal tract. *J. Anat. (Lond.)* **98**, 497—500 (1964a).
- Singh, J.: A new argyrophile method for the rapid staining of enterochromaffin cells in paraffin sections. *Acta anat. (Basel)* **59**, 290—296 (1964b).
- Singh, J.: Argyrophile and argentaffin reactions in individual granules of enterochromaffin cells of the guinea pig. *Z. Zellforsch.* **73**, 549—552 (1966).
- Singh, J.: Argyrophile and argentaffin reactions in individual granules of enterochromaffin cells of reserpine treated guinea pigs. *Z. Zellforsch.* **81**, 501—510 (1967).
- Solcia, E., Capella, C., Vassallo, G.: Lead-haematoxylin as a stain for endocrine cells. *Histochemie* **20**, 116—126 (1969a).
- Solcia, E., Capella, C., Vassallo, G.: Endocrine cells of the stomach and pancreas in states of gastric hypersecretion. *Rendic. R. Gastroenterol.* **2**, 147—158 (1970a).
- Solcia, E., Capella, C., Vassallo, G.: On the staining of the gastrin cell. *Gastroenterology* **61**, 794—795 (1971).
- Solcia, E., Sampietro, R.: Cytologic observations on the pancreatic islets with reference to some endocrine-like cells of the gastrointestinal mucosa. *Z. Zellforsch.* **68**, 689—698 (1965).
- Solcia, E., Vassallo, G., Capella, C.: Selective staining of endocrine cells by basic dyes after acid hydrolysis. *Stain Technol.* **43**, 257—263 (1968).
- Solcia, E., Vassallo, G., Capella, C.: Studies on the G cells of the pyloric mucosa, the possible site of Gastrin secretion. *Gut* **10**, 379—388 (1969b).
- Solcia, E., Vassallo, G., Capella, C.: Cytology and cytochemistry of hormone producing cells of the upper gastrointestinal tract. In: *Origin, chemistry, physiology and pathophysiology of the gastrointestinal hormones*. Stuttgart-New York: Schattauer 1970b.

- Solcia, E., Vassallo, G., Sampietro, R.: Endocrine cells in the antro-pyloric mucosa of the stomach. *Z. Zellforsch.* **81**, 474—468 (1967).
- Sutherland, E. W., Cori, C. F., Haynes, R., Olsen, N. S.: Purification of the hyperglycemic-glycogenolytic factor from insulin and from gastric mucosa. *J. biol. Chem.* **180**, 825—837 (1949).
- Thunberg, R.: Localization of cells containing and forming Histamine in the gastric mucosa of the rat. *Exp. Cell Res.* **47**, 108—115 (1967).
- Vassallo, G., Capella, C., Solcia, E.: Endocrine cells of the human gastric mucosa. *Z. Zellforsch.* **118**, 49—67 (1971).
- Vassallo, G., Solcia, E., Capella, C.: Light and electron microscopic identification of several types of endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the cat. *Z. Zellforsch.* **98**, 333—356 (1969).

Dr. H. Mitschke
M. Becker
Pathologisches Institut der Universität
D-2000 Hamburg 20
Martinistr. 52
Bundesrepublik Deutschland