

## Immunhistologische, cytochemische und elektronenoptische Untersuchungen beim Zollinger-Ellison-Syndrom

H. Mitschke

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

Eingegangen am 20. Juli 1973

### Immunohistologic, Cytochemical and Electron-Microscopic Investigations in Zollinger-Ellison-Syndrome

*Summary.* One malignant extrapancreatic tumor detected in a case of Zollinger-Ellison syndrome was investigated by immunofluorescent, cytochemical and electron-microscope methods. Gastrin was demonstrated radioimmunologically in extracts of parapancreatic lymph node metastases. Only a minority of tumor cells showed specific immunofluorescence with anti-gastrin serum. This corresponds to the small number of secretory granules and can be interpreted as a high secretory activity. The cytochemical reactions correlated to the pancreatic D cell and in some cases to the antral G cell.

Cytochemical and ultrastructural methods revealed several different cell types. Tumor cells with small secretory granules different from G-cell granules were predominant. Besides tumor cells with large D-cell granules, a few Ec cells were demonstrated.

Unexpected ultrastructural findings are complexes consisting of lysosomes, secretory granules and lipids. Their presence is discussed with reference to the synthesis of the peptide hormone and its lipoprotein carrier.

Das Zollinger-Ellison-Syndrom ist klinisch durch eine exzessive Säuresekretion des Magens, die oft von einer Diarrhoe begleitet ist, durch hartnäckig rezidivierende, teilweise atypisch gelegene peptische Ulcera und durch einen intra- oder extrapancreatischen Inselzelltumor gekennzeichnet (Zollinger *et al.*, 1955; 1968; Ottenjann, 1970). In 60% handelt es sich um maligne Tumoren, die bei der Diagnosestellung bereits überwiegend metastasiert sind. In 20% der Fälle liegt das Teilbild einer multiplen endokrinen Adenomatose vor (Ellison *et al.*, 1967). Die extrapancreatischen Tumoren sind am häufigsten in der Duodenalwand lokalisiert (Evans *et al.*, 1972; Oberhelman *et al.*, 1961; Oberhelman, 1972) und kommen auch in der Leber (Zakelj *et al.*, 1969) und im Magen (Royston *et al.*, 1972) vor. Bei Fehlen eines Tumors kann auch eine Hyperplasie der G-Zellen im Magenantrum vorliegen (Cowley *et al.*, 1973). *Radioimmunologisch* wurden stark erhöhte Serumgastrinspiegel nachgewiesen (McGuigan *et al.*, 1968; Sanchez *et al.*, 1972; Temperley *et al.*, 1971), die nach totaler Gastrektomie auf subnormale Werte abfallen können (Passaro *et al.*, 1970; Friesen *et al.*, 1970). Aus den Tumoren konnten Gastrin I und II sowie gleichfalls biologisch aktive sog. „big gastrin“-Fraktionen extrahiert werden (Gregory *et al.*, 1967, 1972).

Die bisherigen cytochemischen und ultrastrukturellen Vergleiche der Tumorzellen beim Zollinger-Ellison-Syndrom mit den Inselzellen des Pankreas oder mit den

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

disseminierten endokrinen Zellen im Magen-Darmtrakt haben unterschiedliche, teilweise widersprüchliche Befunde ergeben (Cavallero *et al.*, 1967; Creutzfeldt *et al.*, 1971). Es sollte daher mit kombinierten immunhistologischen, cytochemischen und elektronenmikroskopischen Methoden eine Charakterisierung eines Zollinger-Ellison-Tumors angestrebt werden.

### Material and Methodik

Bei einem 26jährigen Patienten mit einem Verschußikterus wurden tumorös infiltrierte parapancreatische Lymphknoten am Pankreaskopf exstirpiert (J-Nr. 2710/73). Vor 8 Jahren war eine Magenresektion nach Billroth II und vor 4 Jahren eine totale Gastrektomie wegen recidivierter peptischer Ulcera vorangegangen.

Bei der Sektion 23 Tage nach dem operativen Eingriff (S-Nr. 249/73) fand sich ein kirschgroßer Tumor unmittelbar im Bereich der Papilla Vateri, ferner bestanden weitere Lymphknotenmetastasen. Das Pankreas war makroskopisch tumorfrei.

Gewebe der Lymphknotenmetastasen vom operativen Eingriff wurde kurzzeitig in neutralem Formalin bei 4 °C, ferner in Bouinscher Lösung und in 6% Glutaraldehyd-Phosphatpuffer sowie in 3% Glutaraldehyd-Cacodylatpuffer für elektronenmikroskopische Untersuchungen fixiert. Am kurzzeitig Formalin-fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebe wurde Gastrin im Tumor immunhistologisch in der indirekten Technik mit Anti-Gastrinseren vom Kaninchen und FITC-markiertem Anti-Kaninchen- $\gamma$ -Globulin nachgewiesen.

Folgende cytochemische Reaktionen wurden bei der jeweils optimalen Fixierung durchgeführt: PAS-Reaktion, Diazoniumreaktion, argentaffine Reaktion nach Masson-Hamperl, Carboindimidreaktion, Bleihämatoxylinreaktion, Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin nach Oxydation, Aldehydfuchsin nach Oxydation, Pseudoisocyanin nach Säurehydrolyse und Versilberungen nach Bodian in der Modifikation nach Grimelius (1964), nach Hellerström-Hellman und nach Grimelius (1968).

Das in Glutaraldehyd-Cacodylatpuffer fixierte Gewebe wurde in s-Collidin-gepuffertem Osmiumtetroxyd nachfixiert, dehydriert und in Epon 812 eingebettet. Die Auswahl der Feinschnitte erfolgte anhand Toluidinblau-gefärbter Semidünnschnitte. Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat. Mikroskopiert wurde am Siemens Elmiskop I (bei 80 kV).

### Ergebnisse

Bei diesem Krankheitsbild handelt es sich um ein Zollinger-Ellison-Syndrom mit recidivierten peptischen Ulcera bei einem metastasierten extrapancreatischen, Gastrin-bildenden Tumor. Präoperativ wurden radioimmunologisch erhöhte Serumgastrinspiegel und in den Tumormetastasen Gastrin nachgewiesen. (Für diese Angaben danke ich Herrn Prof. Dr. Creutzfeldt, Medizinische Universitätsklinik, Göttingen.)

#### *Lichtmikroskopische Befunde*

Histologisch waren der Primärtumor und die Lymphknotenmetastasen gleichartig aufgebaut. Neben vorwiegend soliden, carcinoidartigen Formationen aus monomorphen Zellen mit gleichmäßigen ovalen Zellkernen und meist schmalem Cytoplasma fanden sich auch trabekuläre, teilweise girlandenförmige Tumormformationen, die aus größeren Zellen mit breitem hellem Cytoplasma bestanden. Einzelne Tumorzellen waren vakuolär aufgetrieben. Zwischen den Zellsträngen lagen schmale Stromabezirke mit kleinen Blutgefäßen. Außer einer unscharfen Abgrenzung des Tumors waren cytologische Merkmale der Malignität kaum nachweisbar. Amyloidablagerungen im Stroma lagen nicht vor. In den Semidünnschnitten (Abb. 1) treten zahlreiche kleine Cytoplasmavacuolen und teil-

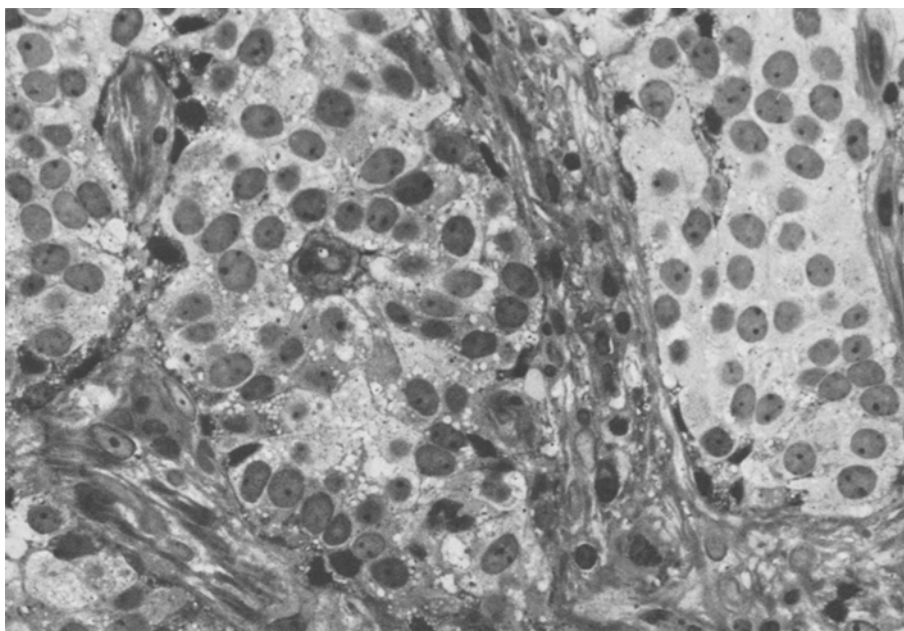


Abb. 1. Solide Tumorformationen mit hellem, feinvacuolärem Cytoplasma und monomorphen Zellkernen. Epon, Toluidinblau. Vergr. 630 $\times$

weise eine Toluidinblau-positive Granulierung am Gefäßpol einzelner Tumorzellen hervor.

Die *Immunofluoreszenz* mit Anti-Gastrinseren fällt lediglich in umschriebenen Tumorbereichen positiv aus (Abb. 2). Die Reaktionsorte sind bevorzugt die gefäßnahen retronukleären Cytoplasmabereiche. Daneben finden sich Gastrinbildende Zellen vereinzelt auch innerhalb der soliden Zellverbände.

Die *cytochemischen Methoden* erlauben im Vergleich zum postmortal autolytisch veränderten Primärtumor eine bessere Aussage an den operativ entfernten Lymphknotenmetastasen. Sie fallen qualitativ und quantitativ unterschiedlich aus.

Die PAS- und Aldehydfuchsinreaktion nach Oxydation waren negativ. Mit der Diazonium- und argentaffinen Reaktion sind ganz vereinzelt Ec-Zellen nachweisbar. Bei der Phosphorwolframsäure-Hämatoxylinfärbung nach Oxydation zeigen nur wenige Tumorzellen eine positive granuläre Reaktion. Die Carbo-diimidreaktion zeigt in einzelnen Zellen gefäßnah die Speicherung eines Carboxylgruppen-reichen Polypeptids an. Ausgedehnter fiel die Pseudoisocyaninmetachromasie und Fluoreszenz nach Säurehydrolyse aus (Abb. 3). Mit der Bleihämatoxylinreaktion stellten sich gleichfalls besonders die zum Gefäßpol gelegenen Cytoplasmabereiche positiv dar. Qualitativ weitgehend gleichartig wie die Pseudoisocyaninreaktion waren die Versilberungen nach Bodian und nach Hellerström-Hellman (Abb. 4a), bei denen sich zahlreiche argyrophile Zellen darstellten. In der Versilberung nach Grimelius (1968) zeigten die meisten Tumor-

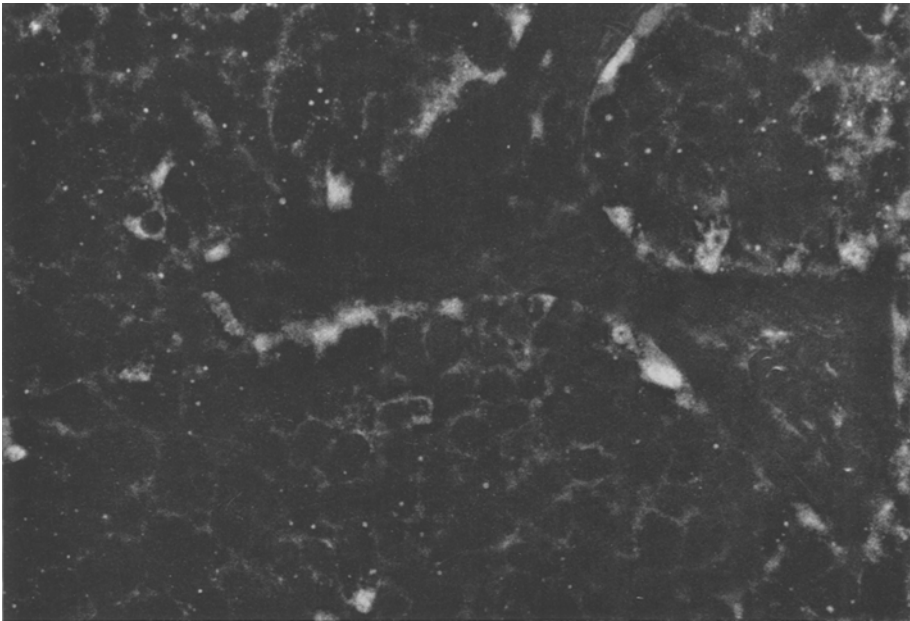


Abb. 2. Immunfluoreszenz einzelner Tumorzellen mit Anti-Gastrinserum (indirekte Methode mit FITC-markiertem Anti-Kaninchen- $\gamma$ -Globulin). Vergr. 630 $\times$

zellen eine feingranuläre Argyrophilie; diese war in zahlreichen Tumorzellen sehr ausgeprägt und gleichfalls bevorzugt in den gefäßnahen Cytoplasmabereichen lokalisiert (Abb. 4 b).

#### *Elektronenmikroskopische Befunde*

Überwiegend enthielten die Tumorzellen nur wenige Sekretgranula (Abb. 5). Diese sind meistens klein und osmiophil mit dicht anliegender Membran. Daneben finden sich zahlreiche große membranbegrenzte Lipidvacuolen, die teilweise einen schwach elektronendichten Inhalt besitzen. Agranuläres endoplasmatisches Reticulum in vesikulären Formationen, freie Ribosomen und granuläres endoplasmatisches Reticulum waren herdförmig nachweisbar. Die Mitochondrien besitzen lamelläre Cristae. Kernnahe liegen Golgikomplexe und dichter gelagerte Cytofilamente. Die Zellkerne sind groß und euchromatinreich. Die Zellmembranen zeigen herdförmig ausgeprägte Interdigitationen neben einzelnen Desmosomen. Ein sehr auffallender Befund sind in den überwiegend Granula-armen Zellen große Komplexe, die nahe den Golgifeldern liegen und die aus Lipidvacuolen und einzelnen Sekretgranula mit randlicher osmiophiler Kondensation bestehen. Sie umgeben oft nadelförmige Spalträume, die am ehesten herausgelösten Lipiden entsprechen (Abb. 6 und 7). Diesen Komplexen benachbart liegen Vesikel mit scholligem osmiophilem Inhalt, die an Granulolysefiguren erinnern. Ferner sind Zellabschnitte mit dichter gelagerten kleinen Granula, vereinzelt auch Zellen mit sehr großen, schwach osmiophilen Sekretgranula und gleichfalls dicht anliegender Membran nachweisbar (Abb. 5 und 8). Entsprechend den cytochemischen

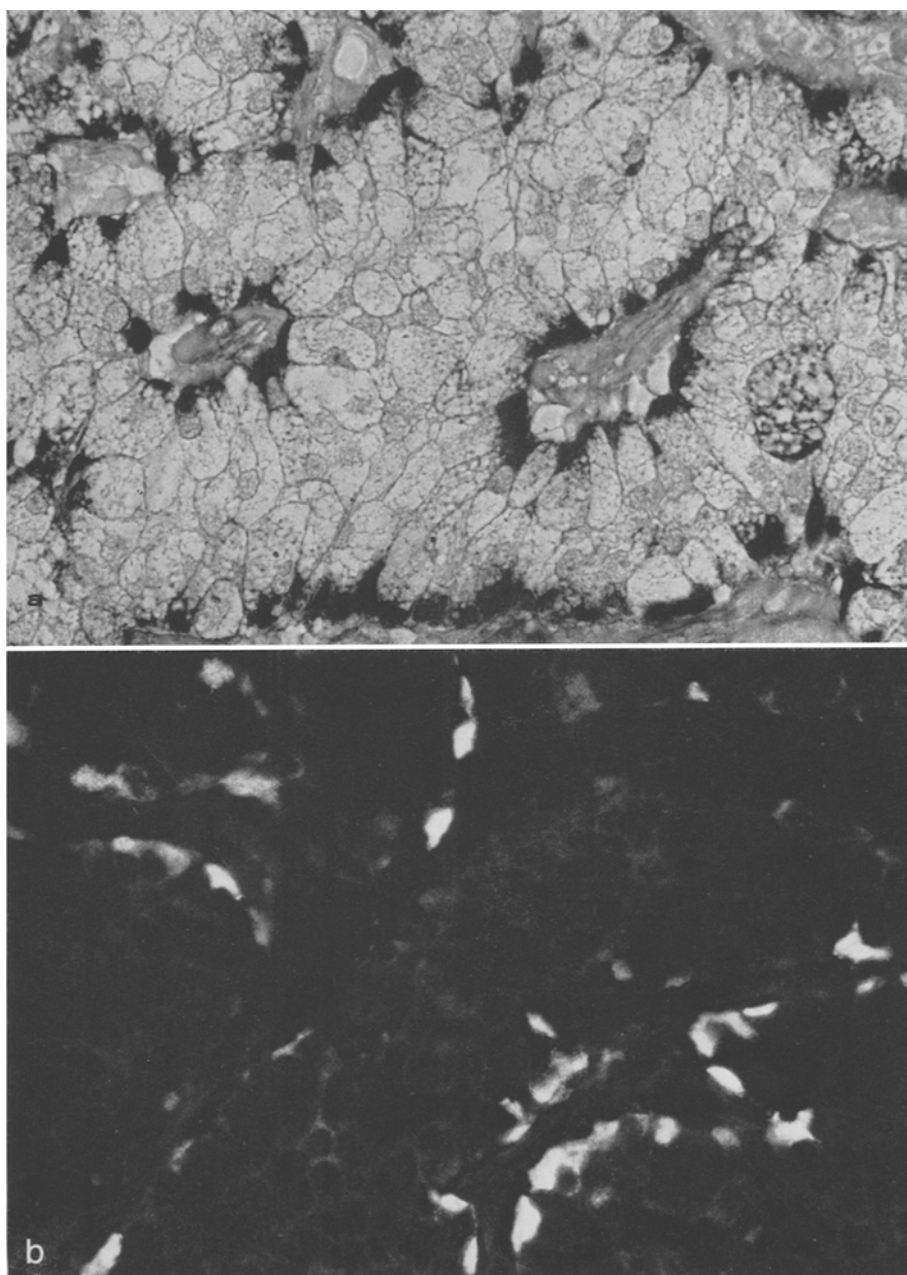


Abb. 3. a Bevorzugt basale Metachromasie der Tumorzellen mit Pseudoisocyanin nach Säurehydrolyse. b Maskierte Fluoreszenz nach HCl-Pseudoisocyanin. Vergr. 630 $\times$

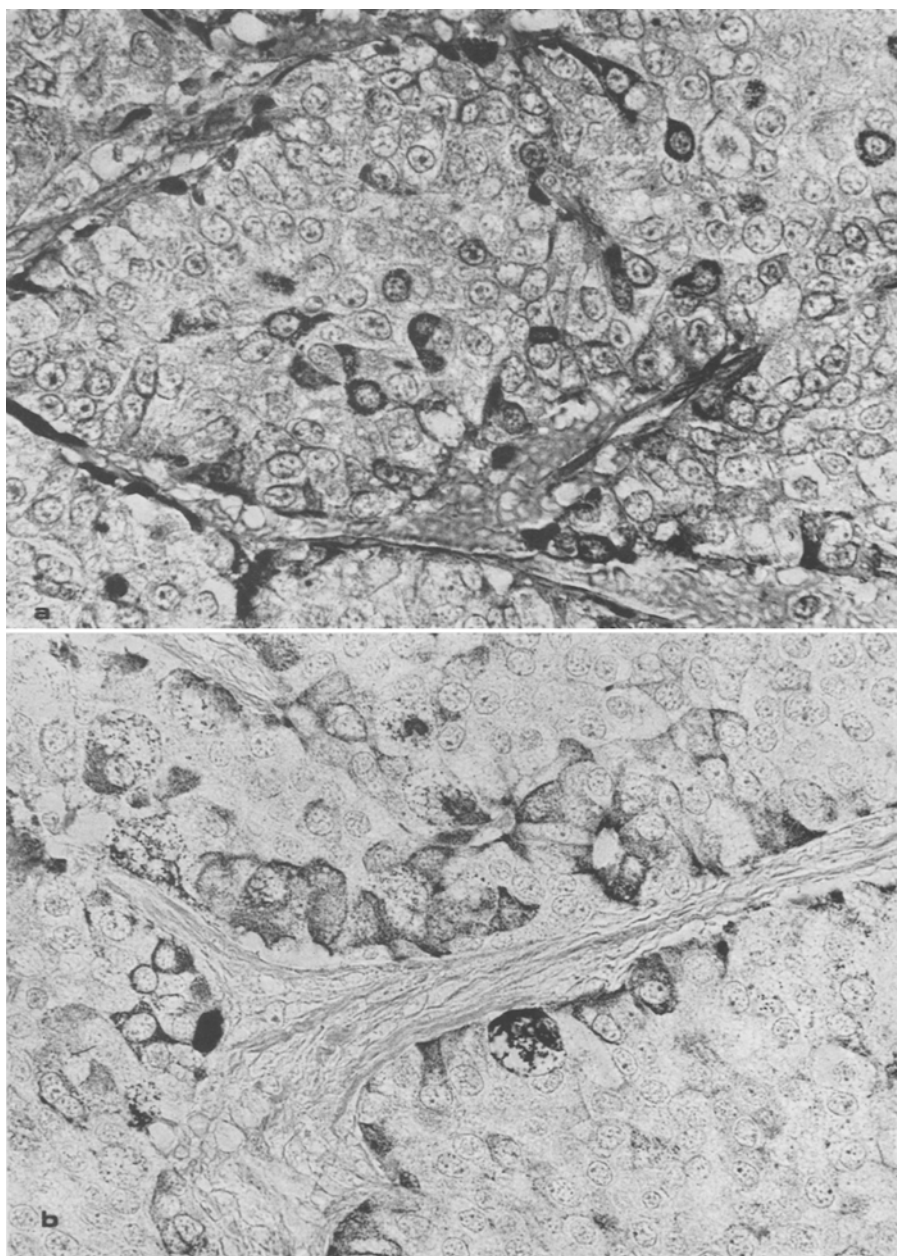


Abb. 4. a Versilberung nach Hellerström-Hellman mit zahlreichen argyrophilen Tumorzellen.  
b Argyrophile Reaktion nach Grimelius (1968) mit unterschiedlich intensiver, feingranulärer  
Ausfällung im Cytoplasma. Vergr. 630×

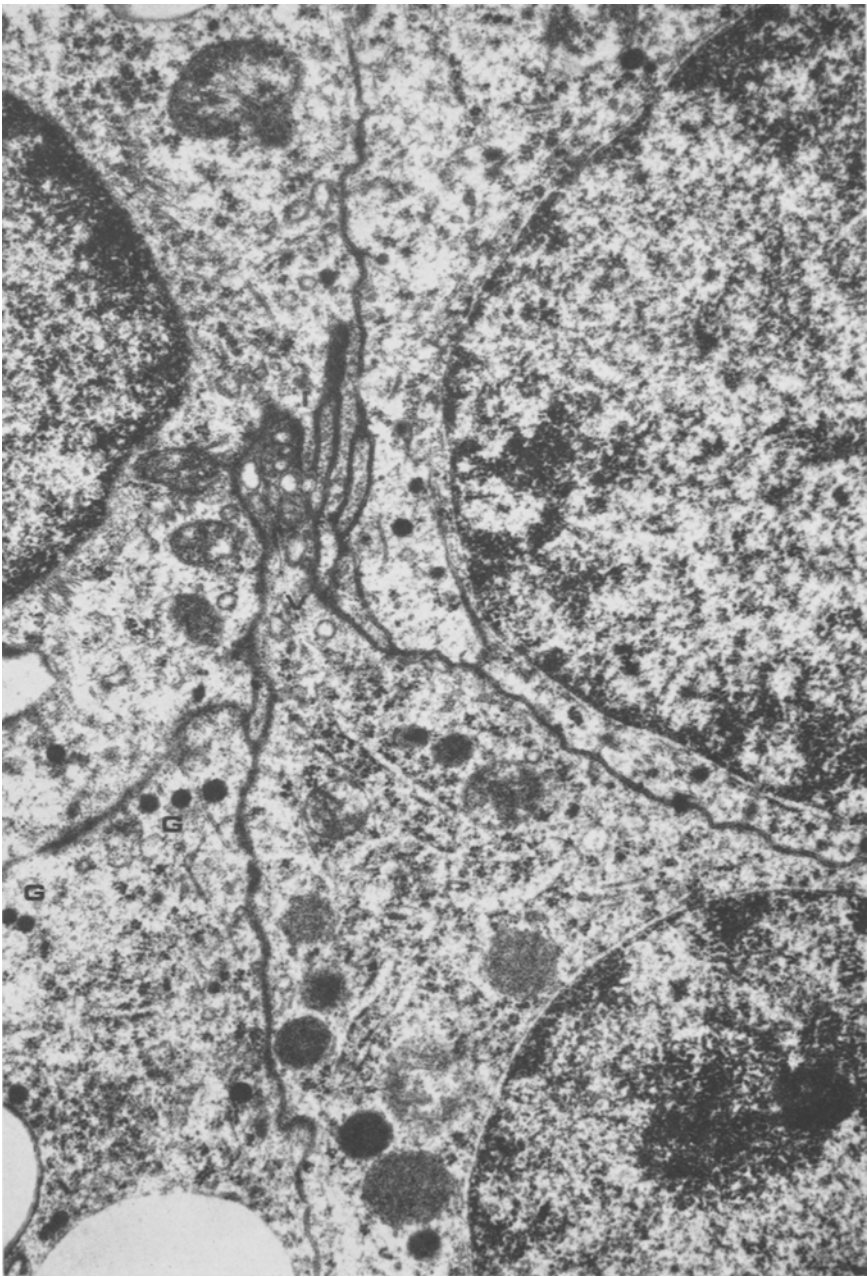


Abb. 5. Tumorzellen mit wenigen, kleinen osmiophilen Sekretgranula (*G*), eine Zelle mit großen, schwach osmiophilen Granula. Interdigitationen (*I*) der Zellmembranen mit angrenzenden Cytoplasmavesikeln (*V*). Vergr. 18773 $\times$

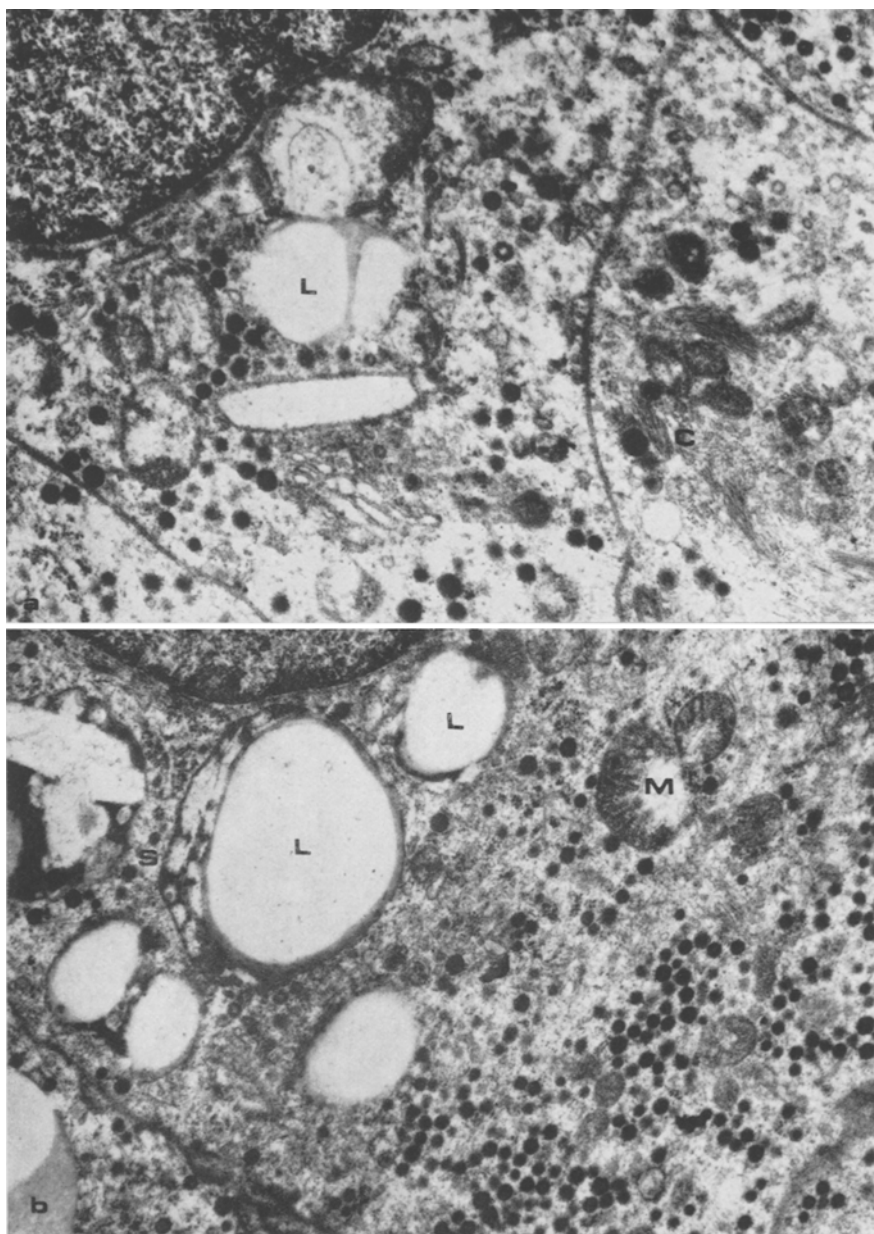


Abb. 6. Ausbildung von Komplexen aus Lipidvakuolen (*L*) und Sekretgranula (*S*) neben einem Golgifeld (*G*). Im Cytoplasma einzelne Mitochondrien (*M*) und Cytofilamente (*C*).  
Vergr. a 14644 $\times$ ; b 12750 $\times$



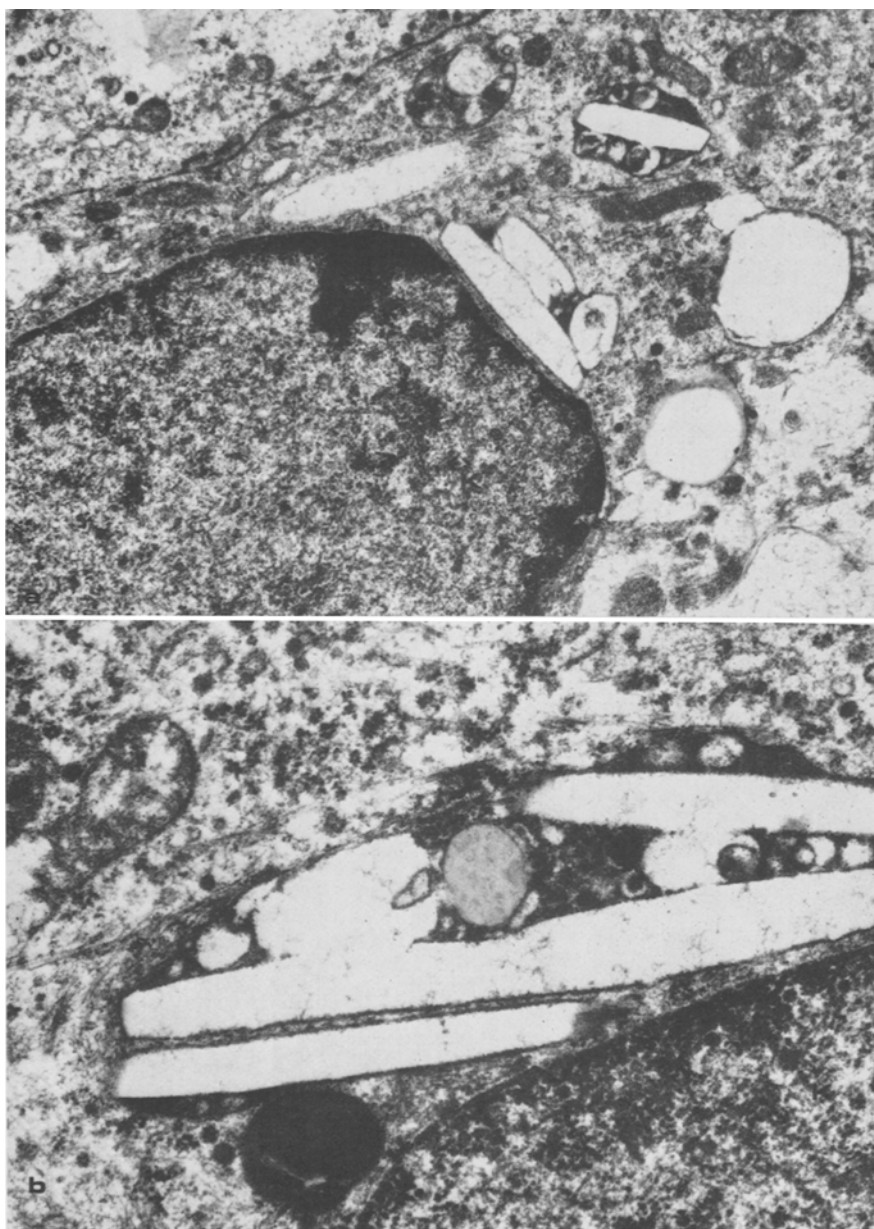


Abb. 7. Große lysosomale Komplexe mit Lipiden und Sekretgranula nahe den Zellkernen (K).  
Vergr. a 17775 $\times$ ; b 21333 $\times$

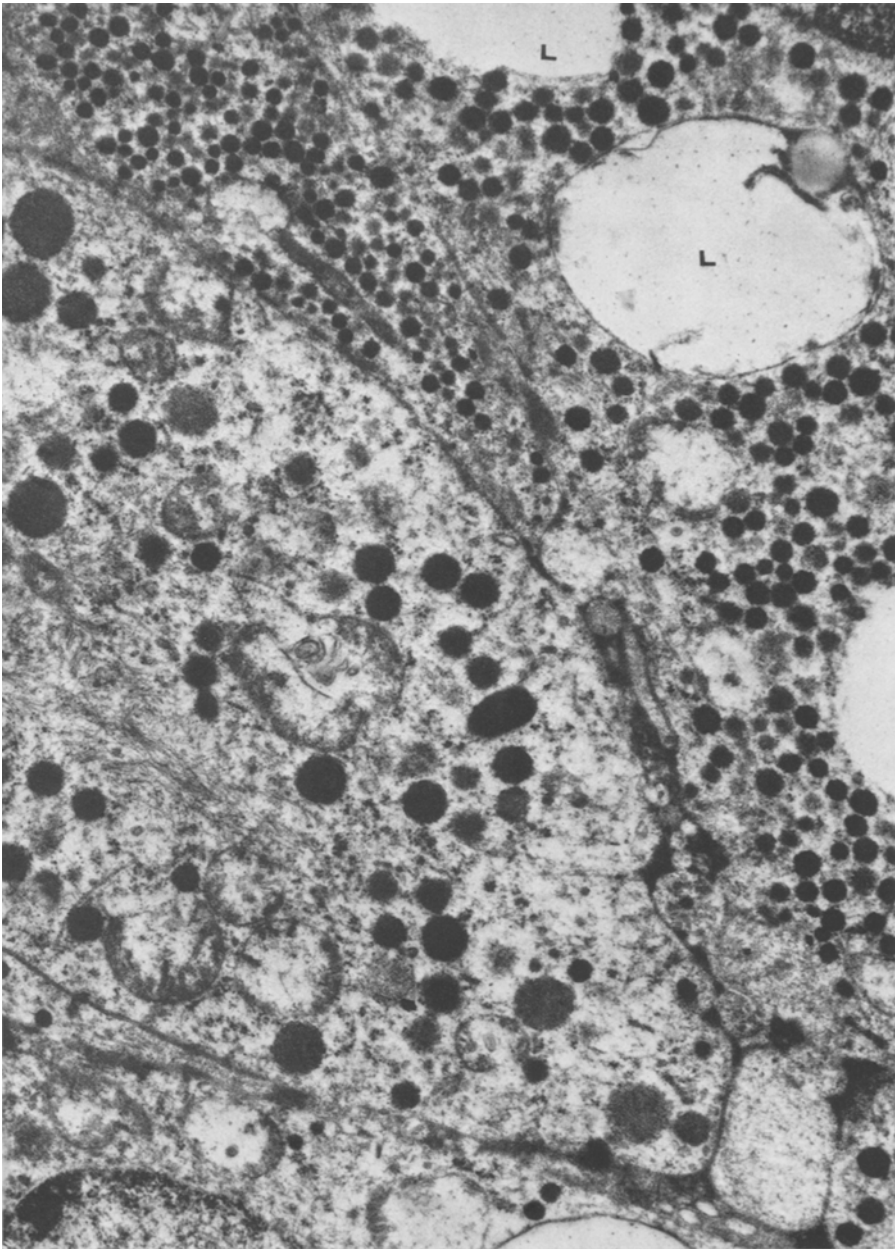


Abb. 8. Tumorzelle mit zahlreichen kleinen osmiophilen Sekretgranula und einzelnen membranbegrenzten Lipidvacuolen (L) neben einer Zelle mit großen Granula unterschiedlicher Elektronendichte. Vergr. 12027 $\times$

Reaktionen sind die Sekretgranula in den gefäßnahen Cytoplasmabereichen teilweise dichter gelagert.

Adenome in den endokrinen Organen waren histologisch nicht nachweisbar.

### Diskussion

Für die Klassifizierung ulcerogener pankreatischer oder extrapankreatischer Tumoren sind neben der Extraktion mit radioimmunologischem oder biologischem Hormonnachweis immunhistologische Untersuchungen besonders bedeutsam. Der Nachweis Gastrin-bildender Zellen in einem Inseladenom gelang erstmals Creutzfeldt *et al.* (1971). In diesem Fall wie auch in anderen Adenomen (Vassallo *et al.*, 1972) reagierten nur ein Teil der Tumorzellen, was im Einklang mit einer elektronenmikroskopisch nachgewiesenen Entgranulierung stand. Mit der Immunfluoreszenz konnte auch erstmals ein Tumor der Magenschleimhaut, der möglicherweise von den G-Zellen ausging, als Ursache eines Zollinger-Ellison-Syndrom nachgewiesen werden (Royston *et al.*, 1972). Immunhistologische Untersuchungen führten zu einer Differenzierung des Zollinger-Ellison-Syndrom in zwei Formen: beim Typ I (Cowley *et al.*, 1973) liegt eine Hypergastrinämie bei Hyperplasie der antralen G-Zellen ohne Nachweis eines Tumors vor. Beim Typ II besteht ein Gastrin-bildender Tumor oder eine Inselhyperplasie (Polak *et al.*, 1972).

Anhand cytochemischer Reaktionen hat man die Zellelemente der Tumoren bei Zollinger-Ellison-Syndrom mit den D- und den Glukagon-bildenden A-Zellen der Pankreasinseln sowie mit den G-Zellen der Antrumschleimhaut verglichen. Überwiegend wurden die *Tumorzellen* als *argyrophil-metachromatische* Zellen beschrieben (Bader *et al.*, 1967; Becker, V., 1969; Cavallero *et al.*, 1967; Schmidt *et al.*, 1967; Tardini *et al.*, 1969). Die argyrophilen Reaktionen sind in der Methode nach Bodian (Cavallero *et al.*, 1967; Royston *et al.*, 1972), nach Grimelius (1968) (Vassallo *et al.*, 1972) oder nach Hellerström-Hellman (Bader *et al.*, 1967; Brettholz *et al.*, 1973; Cavallero *et al.*, 1967; Schmidt *et al.*, 1967; Vassallo *et al.*, 1972) positiv. Teilweise fallen einzelne argyrophile Reaktionen aber auch negativ aus (Bretholz *et al.*, 1973; Creutzfeldt *et al.*, 1969; Tardini *et al.*, 1969; Waisman, 1969). Weitere positive Reaktionen ergeben sich in einem Teil der Tumorzellen mit der Bleihämatoxylinreaktion (Vassallo *et al.*, 1972) und der Phosphorwolframsäure-Hämatoxylinreaktion (Tardini *et al.*, 1969; Waisman, 1969). Das Reaktionsspektrum der Tumorzellen entspricht somit überwiegend den Pankreas-D-Zellen. Auch die Phosphorwolframsäure-Hämatoxylinfärbung ist beim Menschen nicht spezifisch für die A-Zellen, sondern stellt auch die D-Zellen dar (Manocchio *et al.*, zit. nach Tardini *et al.*, 1969). Daneben bestehen Parallelen zur G-Zelle im Magenantrum, die gleichfalls eine Argyrophilie in der Methodik nach Grimelius (1968), eine maskierte Metachromasie und positive Bleihämatoxylinreaktion zeigt.

Während ein negativer Ausfall der Immunhistologie durch eine weitgehende Hormonausschüttung erklärt werden kann, ist der negative cytochemische Reaktionsausfall bei zahlreichen Tumorzellen wohl weniger durch eine geringe Hormonspeicherung, sondern eher durch eine Abnahme eines Carboxylgruppenreichen Trägerproteins bedingt.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Zollinger-Ellison-Tumoren und ihrer Metastasen haben sehr unterschiedliche Befunde ergeben, wobei besonders die Struktur der Sekretgranula mit den A- und D-Granula der Inselzellen verglichen wurde (Isenberg *et al.*, 1973). Überwiegend werden runde, membranbegrenzte osmiophile und relativ kleine Sekretgranula mit einem Durchmesser von etwa 130–180 nm beschrieben (Goldenberg *et al.*, 1969; Greider *et al.*, 1964, 1967; O'Neal *et al.*, 1968; Tardini *et al.*, 1969; Thiery *et al.*, 1966; Toker, 1967; Vassallo *et al.*, 1972; Weichert *et al.*, 1971), die kleiner als die A<sub>2</sub>-Granula sind und die sich auch von den D- und G-Granula abgrenzen lassen. Blasse vesikuläre Granulaformen wie in den antralen G-Zellen finden sich nur selten (Creutzfeldt *et al.*, 1969, 1971). Das gemeinsame Vorkommen von Zellen mit kleinen Granula neben einzelnen Tumorzellen mit großen, D-ähnlichen Sekretgranula wird ebenso wie in diesem Fall vereinzelt beschrieben (Potet *et al.*, 1966; Weichert *et al.*, 1971). Ferner kommen vereinzelt auch A<sub>2</sub>-Granula mit dichtem Kern und heller Außenzone vor (Goldenberg *et al.*, 1969; Schulte *et al.*, 1969; Tardini *et al.*, 1969; Toker, 1967; Waisman, 1969). Selten wurden daneben auch B-Zellgranula nachgewiesen (Bretholz *et al.*, 1973).

Die überwiegende kleingranuläre Form wurde in früheren Mitteilungen auch als delta- oder alpha-Typ bezeichnet. Parallelen zu den D-Granula sind jedoch nur in wenigen Tumorzellen gegeben und bestehen eher zu den D<sub>1</sub>-Zellen in der Magenschleimhaut (Vassallo *et al.*, 1971), deren Funktion noch unklar ist.

Beim Typ I des Zollinger-Ellison-Syndrom sind elektronenoptisch zahlreiche entleerte G-Zellen in der Antrumschleimhaut nachweisbar (Cowley *et al.*, 1973).

Die zahlreichen großen Lipidkomplexe unter Einbeziehung von Lysosomen und Sekretgranula wurden bisher in den Tumoren nicht beschrieben. Die Lokalisation nahe den Golgifeldern spricht für eine Störung im Cylus der Granulumsynthese oder der Lipoproteidbildung als Hormonträger.

Während die cytochemischen Befunde ähnliche Reaktionen wie die G- und D-Zellen ergeben, findet sich elektronenoptisch überwiegend ein kleingranulärer Zelltyp, wobei lediglich in einzelnen Tumorzellen auch D-Granula nachweisbar sind. Die Ultrastruktur der Gastrin-bildenden Tumoren unterscheidet sich somit überwiegend von der antralen G- und der Pankreas-D-Zelle (Creutzfeldt *et al.*, 1973), so daß ein spezifisches elektronenmikroskopisches Merkmal einer Gastrinproduktion in den Tumorzellen nicht vorliegt.

Für die technische Assistenz danke ich Frl. Dotzauer und Frl. Birkenstedt.

### Literatur

- Bader, J.-P., Bonfils, S., Ferrier, J.-P., Dubrasquet, M., Potet, F., Martin, E., Thiery, J.-P., Lamblin, A.: Le syndrome de Zollinger-Ellison. Étude clinique, biologique et anatomique de 10 observations. *Presse méd.* **75**, 2709–2713 (1967)
- Becker, V.: Pathologic anatomy and pathophysiology of the Zollinger-Ellison-syndrome. In: Non-Insulin-producing tumours of the pancreas. eds. Demling, L., Ottenjann, R. Stuttgart: Thieme 1969
- Bretholz, A., Steiner, H.: Les insulomes. *Virchows Arch. Abt. A* **359**, 49–66 (1973)
- Cavallero, C., Solcia, E., Sampietro, R.: Cytology of islet tumours and hyperplasias associated with the Zollinger-Ellison syndrome. *Gut* **8**, 172–177 (1967)

- Cowley, D. J., Dymock, I. W., Boyes, B. E., Wilson, R. Y., Stagg, B. H., Lewin, M. R., Polak, J. M., Pearse, A. G. E.: Zollinger-Ellison syndrome type I: clinical and pathological correlations in a case. *Gut* **14**, 25—29 (1973)
- Creutzfeldt, W., Arnold, R., Creutzfeldt, C., Deuticke, U., Frerichs, H., Track, N. S.: Biochemical and morphological investigations of 30 human insulinomas. *Diabetologia* **9**, 217—231 (1973)
- 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)
- Creutzfeldt, W., Creutzfeldt, C., Perings, E.: Light and electron microscopic findings in three clinical cases of the Zollinger-Ellison-syndrome. In: Non-insulin-producing tumors of the pancreas, eds. Demling, L., Ottenjann, R. Stuttgart: Thieme 1969
- Ellison, E. H., Wilson, S. D.: The Zollinger-Ellison syndrome updated. *Surg. Clin. N. Amer.* **47**, 1115—1124 (1967)
- Evans, W. E., Armstrong, R. G., Schulte, W., Garancis, J. C.: Ulcerogenic tumor of the duodenum. *Amer. J. Surg.* **124**, 596—599 (1972)
- Friesen, S. R., Bolinger, R. E., Pearse, A. G. E., McGuigan, J. E.: Serum Gastrin levels in malignant Zollinger-Ellison syndrome after total gastrectomy and hypophysectomy. *Ann. Surg.* **172**, 504—521 (1970)
- Goldenberg, V. E., Goldenberg, N. S., Benditt, E. P.: Ultrastructural features of functioning alpha- and beta-cell tumors. *Cancer (Philad.)* **24**, 236—247 (1969)
- Gregory, R. A., Grossman, M. I., Tracy, H. J., Bentley, P. H.: Nature of the gastric secretagogue in Zollinger-Ellison tumours. *Lancet* **1967II**, 543—544
- Gregory, R. A., Tracy, H. J.: Isolation of two "big Gastrins" from Zollinger-Ellison tumour tissue. *Lancet* **1972II**, 797—799
- Greider, M. H., Elliott, D. W.: Electron microscopy of human pancreatic tumors of islet origin. *Amer. J. Path.* **44**, 663—678 (1964)
- Greider, M. H., Haam, E., von: Ulcerogenic tumors of the pancreas. *Amer. J. Path.* **50**, 20a—21a (1967)
- Isenberg, J. I., Walsh, J. H., Grossman, M. I.: Zollinger-Ellison syndrome. *Gastroenterology* **65**, 140—165 (1973)
- McGuigan, J. E., Trudeau, W. L.: Immunochemical measurement of elevated levels of gastrin in the serum of patients with pancreatic tumors of the Zollinger-Ellison variety. *New Engl. J. Med.* **278**, 1308—1313 (1968)
- Oberhelman, H. A.: Excisional therapy for ulcerogenic tumors of the duodenum. *Arch. Surg.* **104**, 447—453 (1972)
- Oberhelman, H. A., Nelsen, T. S., Johnson, A. N., Dragstedt, L. R.: Ulcerogenic tumours of the duodenum. *Ann. Surg.* **153**, 214—227 (1961)
- O'Neal, L. W., Kipnis, D. M., Luse, S. A., Lacy, P. E., Javett, L.: Secretion of various endocrine substances by ACTH-secreting tumors—gastrin, melanotropin, norepinephrine, serotonin, parathormone, vasopression, glucagon. *Cancer (Philad.)* **21**, 1219—1232 (1968)
- Ottenjann, R.: Zollinger-Ellison-Syndrom. *Pathophysiologie und Klinik. Fortschr. Med.* **88**, 796—773 (1970)
- Passaro, E., Basso, N., Sanchez, R. E., Gordon, H. E.: Newer studies in the Zollinger-Ellison syndrome. *Amer. J. Surg.* **120**, 138—143 (1970)
- Polak, J. M., Stagg, B., Pearse, A. G. E.: Two types of Zollinger-Ellison syndrome: immunofluorescent, cytochemical and ultrastructural studies of the antral and pancreatic gastrin cells in different clinical states. *Gut* **13**, 501—512 (1972)
- Potet, F., Martin, E., Thiery, J. P., Bader, J. P., Bonfils, S., Lambling, A.: Etude histologique et cytologique du pancreas endocrine, tumoral et non tumoral dans le syndrome de Zollinger-Ellison. *Rev. int. Hépat.* **16**, 737—761 (1966)
- Royston, C. M. S., Brew, D. H. J., Garnham, J. R., Stagg, B. H., Polak, J. M.: The Zollinger-Ellison syndrome due to an infiltrating tumour of the stomach. *Gut* **13**, 638—642 (1972)
- Sanchez, H. E., Longmire, W. P., Passaro, E.: Acid secretion and serum gastrin levels in the Zollinger-Ellison syndrome. *Calif. Med.* **116**, 1—7 (1972)

- Schmidt, H. A., Riecken, E. O., Goebell, H., Dölle, W., Martini, G. A.: Histochemische und biochemische Untersuchungen an einem Pankreastumor eines Patienten mit Zollinger-Ellison-Syndrom. *Klin. Wschr.* **45**, 1180—1188 (1967)
- Schulte, W. J., Hensley, G., Garancis, J. C., Wilson, S. D., Ellison, E. H.: Zollinger-Ellison syndrome. Clinical and histopathologic manifestations. *Amer. J. Surg.* **117**, 866—875 (1969)
- Tardini, A., Anversa, P., Bordi, C.: Ultrastructure of multiple pancreatic tumors in a case of Zollinger-Ellison syndrome. *Amer. J. clin. Path.* **52**, 25—36 (1969)
- Temperley, J. M., Stagg, B. H.: Bioassay and radioimmunoassay of plasma gastrin in a case of Zollinger-Ellison syndrome. *Scand. J. Gastroent.* **6**, 735—738 (1971)
- Thiery, J.-P., Bader, J.-P.: Ultrastructure des îlots Langerhans du pancréas humain normal et pathologique. *Ann. Endocr. (Paris)* **27**, 625—648 (1966)
- Toker, C.: Some observations on the ultrastructure of a malignant islet cell tumor associated with duodenal ulceration and severe diarrhea. *J. Ultrastruct. Res.* **19**, 522—531 (1967)
- Vassallo, G., Capella, C., Solcia, E.: Endocrine cells of the human gastric mucosa. *Z. Zellforsch.* **118**, 49—67 (1971)
- Vassallo, G., Solcia, E., Bussolati, G., Polak, J. M., Pearse, A. G. E.: Non-G cell Gastrin-producing tumours of the pancreas. *Virchows Arch. Abt. B* **11**, 66—79 (1972)
- Waisman, J.: Alpha cell granules in a pancreatic neoplasm. Association with peptic ulcers. *Arch. Path.* **88**, 672—676 (1969)
- Weichert, R. F., Roth, L. M., Harkin, J. C.: Carcinoid-islet cell tumor of the duodenum and associated multiple carcinoid tumors of the ileum. *Cancer (Philad.)* **27**, 910—918 (1971)
- Zakelj, V., Matko, I., Ferluga, D.: Das Zollinger-Ellison-Syndrom bei ektopischem ulzerogenen Pankreastumor in der Leber. *Med. Welt* **20** N.F., 1642—1648 (1969)
- Zollinger, R. M., Ellison, E. H.: Primary peptic ulcerations of the jejunum associated with islet cell tumors of the pancreas. *Ann. Surg.* **142**, 709—723 (1955)
- Zollinger, R. M., Moore, F. T.: Zollinger-Ellison syndrome comes of age. Recognition of the complete clinical spectrum and its management. *J. Amer. med. Ass.* **204**, 361—365 (1968)

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