

Aus dem Zentrallaboratorium für angewandte Übermikroskopie am Zoologischen Institut
der Universität Bonn

ZUR FUNKTIONELLEN MORPHOLOGIE
DER SALZSÄURE-PRODUKTION IN DER MAGENSCHLEIMHAUT
HISTOCHEMISCHER CHLORIDNACHWEIS MIT HILFE
DER ELEKTRONENMIKROSKOPIE*

Von

HANS KOMNICK

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. Juni 1963)

Einleitung

Die Frage nach dem Ort der Salzsäurebildung in der Magenschleimhaut ist mit histologischen Methoden von vielen Autoren untersucht worden (Lit. s. PLENK 1932). Aus der Vielzahl der Arbeiten sind diejenigen von besonderem Interesse, in denen auf Grund spezieller färberischer Methoden versucht wurde, den Herkunftsort der Magensalzsäure im histologischen Präparat zu identifizieren. Die Färbeversuche basierten entweder auf dem Chlorid- oder dem Wasserstoffionenanteil der Salzsäure. Dementsprechend wurde sowohl mit Silbersalzen als auch mit Vitalfarbstoffen gearbeitet, die sich durch ihren Farbwechsel als Indikator für eine saure oder basische Reaktion des Zellinhaltes eignen.

Schon GREENWOOD (1885) behandelte die unfixierte Magenschleimhaut mit Silbernitrat und erzielte durch nachfolgende Belichtung eine elektive Schwärzung der Belegzellen in den Fundusdrüsen, ein Befund, der auf eine Anhäufung von Chloriden in diesen Zellen hindeutet. MACALLUM (1908) hat diese Nachweisreaktion durch Zusatz von Salpetersäure zur Silbernitratlösung weiter spezifiziert. Unter diesen Bedingungen kann eine Beteiligung von Phosphaten und Karbonaten an der Silberfällung und damit letzten Endes an der photochemischen Schwärzung ausgeschlossen werden. Mit Hilfe dieser Methode konnte der Befund von GREENWOOD auch durch FITZGERALD (1910), LESCHKE (1915) und GROEBBELS (1922) bestätigt werden. Im Gegensatz hierzu erhielt jedoch LOPEZ-SUAREZ (1912) mit der gleichen Methode eine ausschließliche Schwärzung der Hauptzellen, die er daher für die Salzsäurebildung verantwortlich machte.

Schon 1903 hatte MOSSE die Vorstellung, daß die Belegzellen Salzsäure enthalten, auf Grund ihrer färberischen Oxyphilie abgelehnt. ZIMMERMANN (1925) hielt diese Eigenschaft jedoch nicht für einen stichhaltigen Beweis gegen die Annahme der Salzsäureproduktion in diesen Zellen, da seiner Ansicht nach die Salzsäure nicht in freier Form in den Belegzellen vorliege, sondern in Form einer Vorstufe, des „Acidogens“. Mit Hilfe von Indikatorfarbstoffen konnte nämlich von verschiedenen Autoren in den Belegzellen eine *alkalische* Reaktion festgestellt werden. HARVEY und BENSLEY (1912) vermuteten daher, daß die Salzsäure in den Belegzellen zunächst als Chlorid einer organischen Base vorggebildet wird. DAWSON (1925) beobachtete dagegen eine schwach saure Reaktion

* Die Untersuchungen wurden im Rahmen eines Forschungsstipendiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt und durch Sondermittel des Herrn Kultusministers des Landes Nordrhein-Westfalen unterstützt.

und vertrat infolgedessen die Ansicht, daß die Salzsäure bereits innerhalb der Belegzellen frei werde.

Trotz einiger widersprechender Befunde wird heute allgemein angenommen, daß die Salzsäure des Magensaftes letzten Endes aus den Belegzellen stammt (vgl. PLENK 1932; CRANE, DAVIES und LONGMUIR 1948; KRZYWANEK und FLASCHENTRÄGER 1954; STÖHR, v. MÖLLENDORFF und GOERTTLER 1955; GUSEK 1961 und BARGMANN 1962). HELANDER (1962, S. 7) schreibt: "Though conclusive proof is lacking the parietal cells are held responsible for the hydrochloric acid production of the fundus glands."

Aus diesem Grunde sind die Belegzellen in den letzten Jahren bevorzugter Gegenstand eingehender elektronenmikroskopischer Untersuchungen gewesen (Lit. s. HELANDER 1962), ohne daß jedoch neue Anhaltspunkte für ihre Funktion gewonnen wurden. Bei der Untersuchung verschiedener Funktionszustände der Magenschleimhaut zeigten von allen Zellen der Fundusdrüsen die Belegzellen die stärksten morphologischen Veränderungen. In mehreren Arbeiten wurde übereinstimmend nachgewiesen, daß die Belegzellen von Hungertieren vor allem in den apikalen Zellbereichen und in der Region um die binnenzelligen Sekretkanälchen herum sehr viele Vakuolen enthalten, die nach Wiederfütterung oder nach der Reizung durch bestimmte Drogen nicht mehr vorhanden sind oder zumindest nicht mehr in der gleichen Anzahl gefunden werden. Die (in Anlehnung an die lichtmikroskopisch gewonnene Vorstellung über die Funktion der Belegzellen) gegebene Deutung dieses Befundes faßt HELANDER (1962, S. 107 und 108) folgendermaßen zusammen: "Several authors have postulated that the vacuoles serve as receptacles for the secretory products of the parietal cells. The hydrochloric acid would be released by the vacuoles establishing communications with the glandular lumen or with the lumen of the intracellular canaliculi. However, using electron microscopic techniques this theory cannot yet be tested."

Nach der erfolgreichen Fällung und Lokalisation von Chloridionen in der Salzdrüse (KOMNICK 1962 und 1963b) haben wir daher versucht, die Brauchbarkeit unserer Methode an dem günstigen Objekt der Magenschleimhaut zu prüfen und damit einen Beitrag zur funktionellen Morphologie der Salzsäureproduktion in den Fundusdrüsen zu leisten.

Material und Methode

Die Untersuchung wurde an der Magenschleimhaut von weißen Mäusen durchgeführt. Bekanntlich entwickeln diese Tiere erst bei Einbruch der Dämmerung ihre größte Aktivität. Normalerweise werden die Mäuse in unserem Institut täglich um 15 Uhr gefüttert und beginnen erst in den Abendstunden mit der Nahrungsaufnahme. Um die experimentelle Beeinflussung der Sekretbildung auf einen eventuellen tageszeitlichen Aktivitätszyklus der Magenschleimhaut abzustimmen, wurde die Gewebefixation im Endversuch erst um 20 Uhr durchgeführt. Vorversuche, in denen die Tiere aus Gründen des Zeitplanes für die Gewebeeinbettung in den Morgenstunden getötet worden waren, hatten zwar, was die Sekretspeicherung in den Belegzellen anbelangt, prinzipiell die gleichen Ergebnisse erbracht, doch waren die durch die unterschiedliche Aktivität der Magenschleimhäute bedingten Unterschiede in den entsprechenden Zellen nicht so deutlich ausgeprägt. Dies dürfte in erster Linie auf die in diesem Versuch nicht so streng durchgeführte experimentelle Vorbehandlung, zum Teil möglicherweise aber auch auf eine Überlagerung der experimentellen Beeinflussung mit einem tageszeitlichen Aktivitätsrhythmus zurückzuführen sein. Zur besseren Vergleichbarkeit des Materials wurden im Endversuch fünf Mäuse verwendet und zwar nur 6 Monate alte weibliche Tiere desselben Wurfes.

Die Aktivität der Magenschleimhaut wurde ausschließlich durch Hunger- und Fütterungsversuche beeinflußt. Die Dauer der Hungerperiode kann erst mit dem Zeitpunkt des Versuchsbeginns festgelegt werden, da nicht beobachtet wurde, wann die Tiere in der Nacht vorher zum letzten Mal gefressen hatten. Zur Vermeidung von Koprophagie wurden die von HELANDER (1962) beschriebenen Käfige aus Plexiglas verwendet. Die Versuche gliedern sich wie folgt:

a) Vorversuch (Fixation um 9 Uhr):

1. Maus: 48 Std gehungert.

2. Maus: ohne experimentelle Vorbehandlung; die Nahrungsaufnahme erfolgte in der Nacht vorher, Magen also im Zustand der Verdauungstätigkeit.

b) Endversuch (Fixation um 20 Uhr).

1. Maus: 12 Std gehungert (also nur unwesentlich im normalen Zyklus gestört).

2. Maus: 12 Std gehungert, 1 Std Nahrungsaufnahme.

3. Maus: 48 Std gehungert.

4. Maus: 48 Std gehungert, 15 min Nahrungsaufnahme.

5. Maus: 48 Std gehungert, 30 min Nahrungsaufnahme.

Als Nahrung diente kommerzielles Mäusefutter; die Tiere bevorzugten jedoch die Weizenkörner aus diesem Gemisch; Trinkwasser war jederzeit *ad libitum* vorhanden.

Für den *Chloridnachweis* wurde die früher beschriebene Methode (KOMNICK 1962) geringfügig modifiziert: 1. Um eine bessere Erhaltung des Grundplasmas zu erzielen, wurde die OsO₄-Konzentration des Fixierungsgemisches auf 1,5% erhöht. 2. Zur Spezifizierung der Niederschläge wurde ein Salpetersäurebad in der 50%-Azetonstufe eingeschaltet. Dem gleichen Zweck diente bis zu einem gewissen Grade in den früheren Untersuchungen die saure Kontrastierungslösung (vgl. KOMNICK 1962). Bis zum Salpetersäurebad wurde außerdem vorsichtshalber zur Vermeidung etwaiger photochemischer Reduktion des Silberchlorids bei dunklem Rotlicht gearbeitet, um einen Verlust von ursprünglich als Chlorid gefälltem Silber im Salpetersäurebad herabzusetzen. Die Präparation wurde nach folgendem Zeitplan durchgeführt:

1. Fixation in 1,5% OsO₄ + 1% Ag-Lactat; pH 6,8 mit 0,01 m Borax eingestellt, 2 Std bei +1° C in einer Schüttelvorrichtung.

2. 10% Azeton 5 min.

3. 30% Azeton 5 min.

4. 50% Azeton mit oder ohne 0,1 n HNO₃ 2 × 5 min.

5. 70% Azeton 2 × 5 min.

6. 90% Azeton 2 × 5 min.

7. 100% Azeton 3 × 10 min.

8. Einbettung in Vestopal W.

Zur normalen morphologischen Vergleichsuntersuchung wurden jeweils Stücke desselben Fundus im Os/Cr-Gemisch nach WOHLFARTH-BOTTERMANN (1957), pH 7,4 bei +1° C 2 Std lang fixiert. Während der Entwässerung erfolgte eine Nachkontrastierung in 0,5% Uranylazetat + 1% Phosphorwolframsäure in 70%igem Azeton (WOHLFARTH-BOTTERMANN 1957). Die an einem Ultrotome (LKB, Schweden) hergestellten Dünnschnitte wurden in einem Siemens-Elektronenmikroskop Typ ÜM 100 d, bei 60 kV Strahlenspannung und 30 μ Apertur untersucht.

Frau M. SAUERNHEIMER und Frau U. KOMNICK danke ich für die technische Assistenz.

Ergebnisse

1. Morphologische Befunde

Die Fundusdrüsen der Maus setzen sich bekanntlich aus vier verschiedenen Zellarten zusammen: 1. Hauptzellen oder Zymogenzellen, die Pepsin bilden; 2. Nebenzellen oder mukoide Zellen, die einen alkalischen, salzsäure-unlöslichen Schleim absondern und wahrscheinlich auch Urease bilden. Diese Stoffe sollen die Schleimhaut vor Selbstverdauung schützen (vgl. BARGMANN 1962); 3. Belegzellen, die als Salzsäurebildner gelten, und 4. argyophile Zellen, von denen eine endokrine Funktion angenommen wird (vgl. HELANDER 1962). Die Feinstruktur

aller dieser Zelltypen ist bereits mehrfach beschrieben worden (Lit. s. HELANDER 1962). Die Mikromorphologie der in diesem Rahmen interessierenden Belegzellen soll daher nur in zwei Übersichtsbildern aus verschiedenen Funktionszuständen gegenübergestellt werden (Abb. 1 und 2).

Die Belegzellen liegen oftmals an der Peripherie der tubulösen Fundusdrüsen und stehen dann über zwischenzellige Sekretkanälchen mit den Drüsennlichtungen in Verbindung. Charakteristisch für diese Zellen sind die binnenzelligen Sekretkanälchen oder Korbkapillaren (PLENK 1932), die den mehr oder weniger zentral gelegenen Kern in unterschiedlicher Entfernung umspinnen und häufig auch bis dicht an die Zellbasis heranreichen (Abb. 1 und 2, *IK*). Diese Kanälchen besitzen relativ viele Mikrovilli und stehen mit dem Tubuluslumen in offener Verbindung, wie bei günstiger Schnittführung deutlich zu erkennen ist. Das Lumen der binnenzelligen Sekretkapillaren ist daher strenggenommen eine Fortsetzung des Extrazellularraumes in den Zelleib hinein.

Weiterhin fallen die zahlreichen Mitochondrien auf, die auf einen großen oxydativen Energiestoffwechsel der Belegzellen hindeuten. Sie besitzen häufig dunklere intramitochondriale Partikel. Zwischen den Mitochondrien sind vereinzelt osmiophile Grana, sog. „dense bodies“, eingestreut, die eine unterschiedliche Strukturausprägung erkennen lassen (Abb. 1 und 2, *D*).

In der Regel findet man innerhalb einer Belegzelle mehrere Golgikomplexe, die in kernnahen, aber auch in den peripheren lateralen und basalen Bereichen auftreten können (Abb. 1 und 2, *Doppelpfeilmarkierungen*).

Vakuoläre und tubuläre Schnittprofile des endoplasmatischen Retikulums, letztere stellenweise mit Ribosomenbesatz (Abb. 2, *weiße Pfeilmarkierung*), sind über den ganzen Zelleib verstreut und unterliegen offenbar einem funktionsbedingten Strukturwandel.

Die basale Zellmembran zeigt an manchen Stellen vereinzelte, nicht besonders tiefe Einfaltungen (Abb. 1, *einfache Pfeilmarkierung*). Auch die lateralen Zellgrenzen sind durch Faltenbildungen mit benachbarten Belegzellen oder je nach Lage auch mit anderen Zelltypen verzahnt (Abb. 2, *gestrichelte Pfeilmarkierung*). An der apikalen Oberfläche sind regelmäßig Mikrovilli ausgebildet.

Innerhalb der verschiedenen physiologischen Zustände des Magens zeigen die Belegzellen deutliche Strukturunterschiede, die auf einen ausgeprägten Funktionsrhythmus schließen lassen. Die endoplasmatischen Membransysteme, die apikale Zelloberfläche und deren Fortsetzung in den binnenzelligen Sekretkanälchen weisen dabei den stärksten elektronenmikroskopisch erkennbaren Formwandel auf.

Bei den Hungertieren ist ein großer Teil des Zelleibes von Vakuolen erfüllt (Abb. 1, *V*). Sie liegen bevorzugt im Zellapex und flankieren die Korbkapillaren auf der dem Kern zugewandten Seite (Abb. 1). In sehr vielen Zellen umlagern sie diese Kanälchen auf allen Seiten und reichen oftmals auch lateral und basal bis fast an die Zellperipherie. Die bläschenhaltigen Apices sind häufig völlig frei von Mitochondrien, die dann größtenteils auf die peripheren Zellbereiche zurückgedrängt zu sein scheinen (Abb. 1).

In diesem Funktionsstadium besitzen die Mikrovilli der Sekretkanälchen (Abb. 1, *IK*) eine kurze und gedrungene Form und ihr Besatz an den Apices ist nicht besonders ausgeprägt. In den meisten Zellen sind sie dort nur spärlich vorhanden.

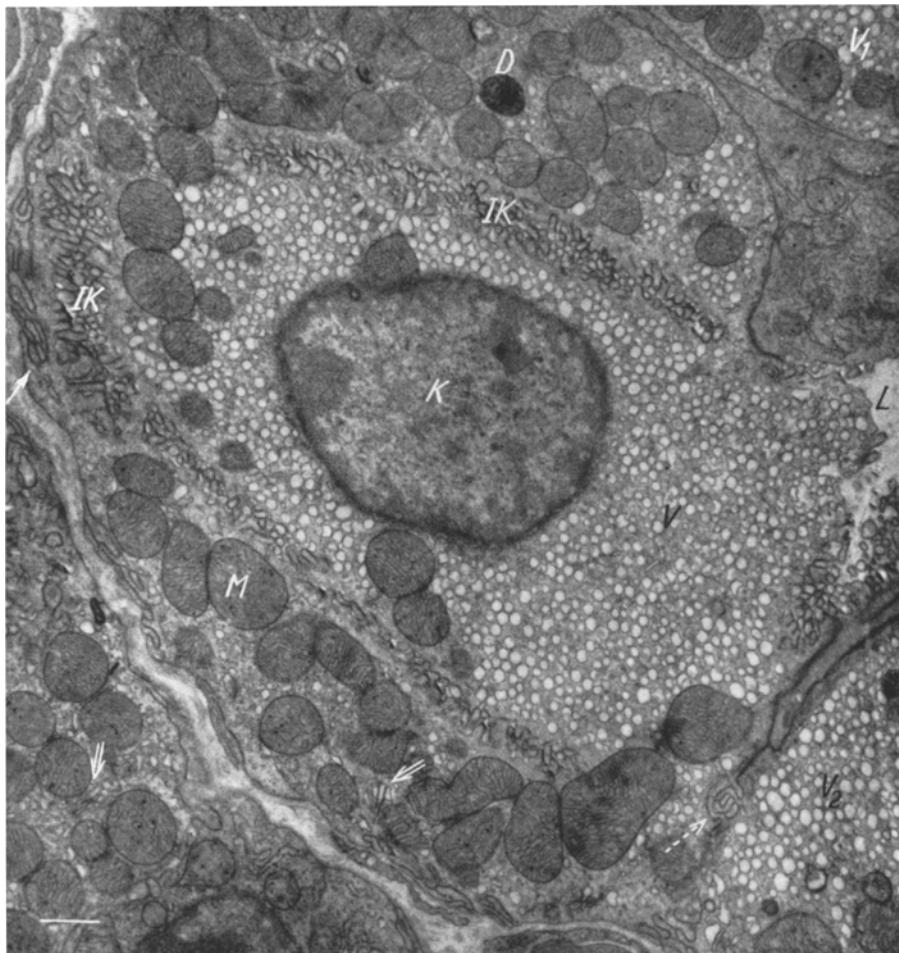


Abb. 1. Belegzelle aus einer Fundusdrüse der Maus (48 Std Hunger). Fix.: Os/Cr. *IK* binnenzellige Sekretkanälchen mit Mikrovilli; *L* Drüsenumen; *K* Kern; *V* Vakuolen; *V₁* und *V₂* Vakuolen in zwei benachbarten Belegzellen; *M* Mitochondrien; *D* „dense bodies“; Golgiapparat (Doppelpfeil); basale Zellmembraneinfaltung (einfache Pfeilmarkierung). Verzahnungsstelle mit einer Nachbarzelle (gestrichelter Pfeil). Vergr. 8000:1

30 min nach der Wiederfütterung sind die Vakuolen in den meisten Belegzellen verschwunden oder teilweise auf ein minimales Volumen zusammengezurckt (Abb. 2). Die Mitochondrien besetzen nun, unregelmäßig verstreut, den ganzen Zelleib oder flankieren oft auch bevorzugt die Korbkapillaren. Ein funktionsabhängiger Öffnungszustand des Lumens dieser Kanälchen ließ sich nach Os-Cr-Fixation nicht feststellen. In den Belegzellen von gefütterten Mäusen treten Anschnitte durch dieses Kanalsystem jedoch stärker und zahlreicher hervor. Offenbar scheinen sowohl die Durchmesser der einzelnen Kanälchen als auch das gesamte Kanalsystem vergrößert worden zu sein. Das vergrößerte Lumen der Korbkapillaren wird sekundär jedoch wieder durch die Mikrovilli ausgefüllt (Abb. 2, *IK*). Offensichtlich ist auch die Vermehrung und Ver-

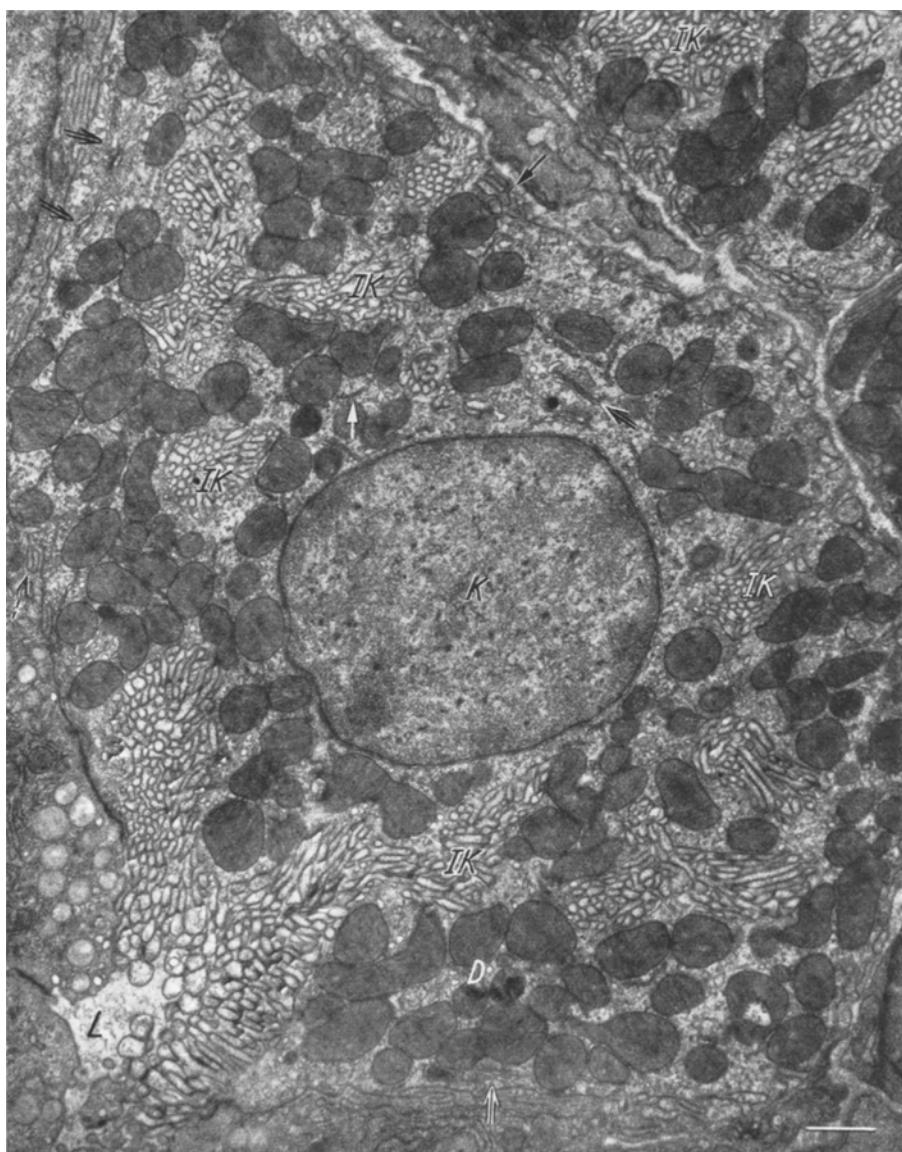


Abb. 2. Belegzelle aus einer Fundusdrüse der Maus (48 Std Hunger, 30 min nach der Wiederfütterung)
Fix.: Os/Cr. Beschriftung wie in Abb. 1. Der weiße Pfeil deutet auf einen mit Granula besetzten
Endoplasmakanal. Beachte den unterschiedlichen Strukturaspekt der Belegzellen in Abb. 1 und 2.
Erklärung im Text. Vergr. 9000:1

größerung der Mikrovilli. Diese Gebilde sind nun lang und schmal und besetzen dicht den Zellapex, wo sie häufig an ihrem distalen Ende eine kolbenartige Verdickung aufweisen (vgl. Abb. 2). Auch in den vergrößerten binnenzelligen Kanälchen sind sie sehr viel zahlreicher und länger als in den Belegzellen von Hungertieren (vgl. Abb. 1 und 2 und Abb. 6 und 7).

Die beschriebenen Strukturunterschiede in den Belegzellen sind jedoch nur im statistischen Sinne für die jeweiligen Funktionsstadien des Magens charakteristisch. In der Schleimhaut des leeren Magens zeigt der weitaus überwiegende Teil der Belegzellen einen Strukturaspekt, der dem in Abb. 1 gezeigten vergleichbar ist; einige nähern sich in ihrem Aussehen jedoch den Zellen, wie sie typisch nach der Fütterung auftreten. Das Entsprechende gilt für den gefüllten Magen. Auch dann sind vereinzelte Belegzellen mit den charakteristischen Vakuolen von Hungertieren anzutreffen. Trifft die auf S. 355 erwähnte Ansicht über die funktionelle Bedeutung der Vakuolen in den Belegzellen zu, dann ist diese Tatsache jedoch nicht weiter verwunderlich: Wenn man berücksichtigt, daß auch der leere Magen eine gewisse Azidität aufrechterhält, muß ein Teil der Belegzellen also auch in diesem Zustand Salzsäure produzieren, während nach der Wiederfütterung, wenn die meisten Zellen die Salzsäure oder deren Vorstufe ausgeschüttet haben, einige entweder ihr Sekret noch zurückhalten oder, was wahrscheinlicher ist, bereits wieder neu bilden und speichern. Wir konnten auch feststellen, daß 15 min nach der Wiederfütterung die meisten Belegzellen noch aussahen wie bei Hungertieren; 30 min nach der Fütterung waren dagegen in den meisten Zellen die Vakuolen verschwunden; 1 Std nach der Fütterung traten dann bereits in sehr vielen Belegzellen die vergrößerten Vakuolen auf. Da dieser Befund nur an jeweils einer Maus beobachtet wurde, sind die angegebenen Zeiten natürlich nicht gesichert. Es wären auch Unterschiede in verschiedenen Fundusregionen denkbar, denn obwohl Gewebeproben aus verschiedenen Bezirken angeschnitten und untersucht wurden, kann das bei diesem für die elektronenmikroskopische Untersuchung sehr großen Organ nur als Stichproben gewertet werden. Berücksichtigt man jedoch die übereinstimmenden Ergebnisse anderer Autoren (vgl. HELANDER 1962), dann dürften die Befunde dieser Proben weitgehend repräsentativ sein.

2. Histochemische Befunde

Die Möglichkeit, das im lebenden Gewebe enthaltene Chlorid später im elektronenmikroskopischen Bild zu lokalisieren, beruht auf der Technik der simultanen Fixierung und Fällung (KOMNICK 1962). Auf diese Weise kann eine Diffusion des Chlorids weitgehend vermieden und gleichzeitig ein Grad der Strukturerhaltung erzielt werden, der eine genaue Analyse der Lokalisation der Präzipitate in den Ultrastrukturen der Zelle ermöglicht. Silberionen sind bekanntlich ein sehr empfindliches Reagens auf Chlorid, so daß es auch bei relativ niedrigen Chloridkonzentrationen noch zu einer Niederschlagsbildung kommt. Die äußerst geringe Löslichkeit von Silberchlorid verringert den Verlust an gefälltem Chlorid bei der Entwässerung des Gewebes, und die große Massendichte des Silbers begünstigt die elektronenoptische Abbildung der Niederschläge.

Die Frage, inwieweit die elektronenmikroskopisch erkennbare Lokalisation der Präzipitate der Chloridverteilung *intra vitam* entspricht, wurde bereits früher eingehend erörtert (s. KOMNICK 1963b). Die in den vorgelegten Abbildungen zum Ausdruck kommende elektive Lokalisation in bestimmten Zellstrukturen schließt Bedenken, daß es sich dabei um Diffusionsartefakte handeln könnte, weitgehend aus. Da eine Diffusion letzten Endes zu einem Konzentrationsausgleich führt, kann die mit dieser Methode nachweisbare Chloridakkumulation

innerhalb bestimmter Zellarten — und bei diesen wiederum auch nur in Abhängigkeit vom Funktionszustand innerhalb bestimmter intrazellulärer Räume — nicht allein durch physikalisch-chemische Gesetzmäßigkeiten bestimmt werden. Es muß daher geschlossen werden, daß die durch die örtlich verschiedene Niederschlagsdichte angezeigten Konzentrationsunterschiede durch aktive Zelleistungen geschaffen wurden.

Die Fixierung der Fundusdrüsen in der silberhaltigen OsO₄-Lösung zum Zwecke der Chloridfällung hat keine wesentliche Verschlechterung der Strukturerhaltung in den verschiedenen Zellen zur Folge. In den Tubulusepithelzellen der Salzdrüse konnten früher beim Chloridnachweis das Grundplasma und die Mitochondrien nur relativ schlecht erhalten werden (s. KOMNICK 1963b, Abb. 2, S. 167). Die hier erzielte bessere Fixierungswirkung dürfte wohl in erster Linie auf die Erhöhung der Osmiumkonzentration zurückzuführen sein. Erstaunlicherweise hat auch das nachfolgende Salpetersäurebad keinen nennenswerten nachteiligen Einfluß weder auf die Strukturerhaltung noch auf den Bildkontrast. Damit die kleinen Silberkristalle nicht durch den Strukturkontrast allzusehr verdeckt wurden, wurden bei den photographischen Vergrößerungen stets weichere Papiergradationen als für normale morphologische Abbildungen verwendet. Die Abb. 3—8 und 10 stammen aus Gewebeblöcken, die mit Salpetersäure behandelt wurden. Die Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit denen aus unbehandelten Zellen überein; in den letzteren findet man lediglich mitunter in den Zellkernen und in den Mitochondrien ganz vereinzelte Niederschläge, die durch die Säure offenbar herausgelöst werden.

Abb. 3a gibt in einer Übersichtsvergrößerung einen Schrägschnitt durch zwei Drüsentubuli eines Hungertieres wieder und zeigt ausschnittsweise verschiedene Zelltypen. Bei der Zelle mit angeschnittenem Zellkern (*K*) in der Bildmitte handelt es sich um eine Belegzelle, wie man deutlich an den intrazellulären Sekretkanälchen (*IK*), den zahlreichen Vakuolen und Mitochondrien erkennen kann. Ausschließlich innerhalb der Belegzelle in derselben Cytoplasmaregion, die die Vakuolen besetzen, sind zahlreiche punktförmige Silberchloridkristalle niedergeschlagen worden. Während in den vakuolenhaltigen Belegzellen die Chloridniederschläge stets gehäuft auftreten, sind sie in den anderen Zellarten nur selten und vereinzelt ohne erkennbare bevorzugte Lokalisation anzutreffen. Dieser Befund ist leicht zu erklären, da die anderen Zellen sicherlich auch etwas Chlorid enthalten. Aus Abb. 3a geht aber schon deutlich hervor, daß von allen Zellarten der Fundusdrüsen die *Belegzellen elektiv Chlorid* anhäufen, so daß sie wohl mit Recht als Produzenten der Magensalzsäure gelten dürfen.

Außer in den Belegzellen findet man auch regelmäßig *im intertubulären Bindegewebe zahlreiche Chloridniederschläge*, die dort oftmals zu mehr oder weniger großen Konglomeraten vereint auftreten (Abb. 3a und b, *B*). Der gleiche Befund konnte auch früher in der Salzdrüse und in der Niere erhoben werden (KOMNICK, unveröffentlicht). Abb. 3b zeigt einen Ausschnitt aus zwei Fundusdrüsen einer hungernden Maus. Im Bindegewebe zwischen den beiden Drüsenschläuchen liegen zahlreiche und relativ große Präzipitate, die an der gleichen Stelle in Abb. 3a (*B*) nur vereinzelt auftreten. Auf Grund der großen Niederschlagsdichte muß in diesen Bindegewebsräumen eine höhere Chloridkonzentration vermutet

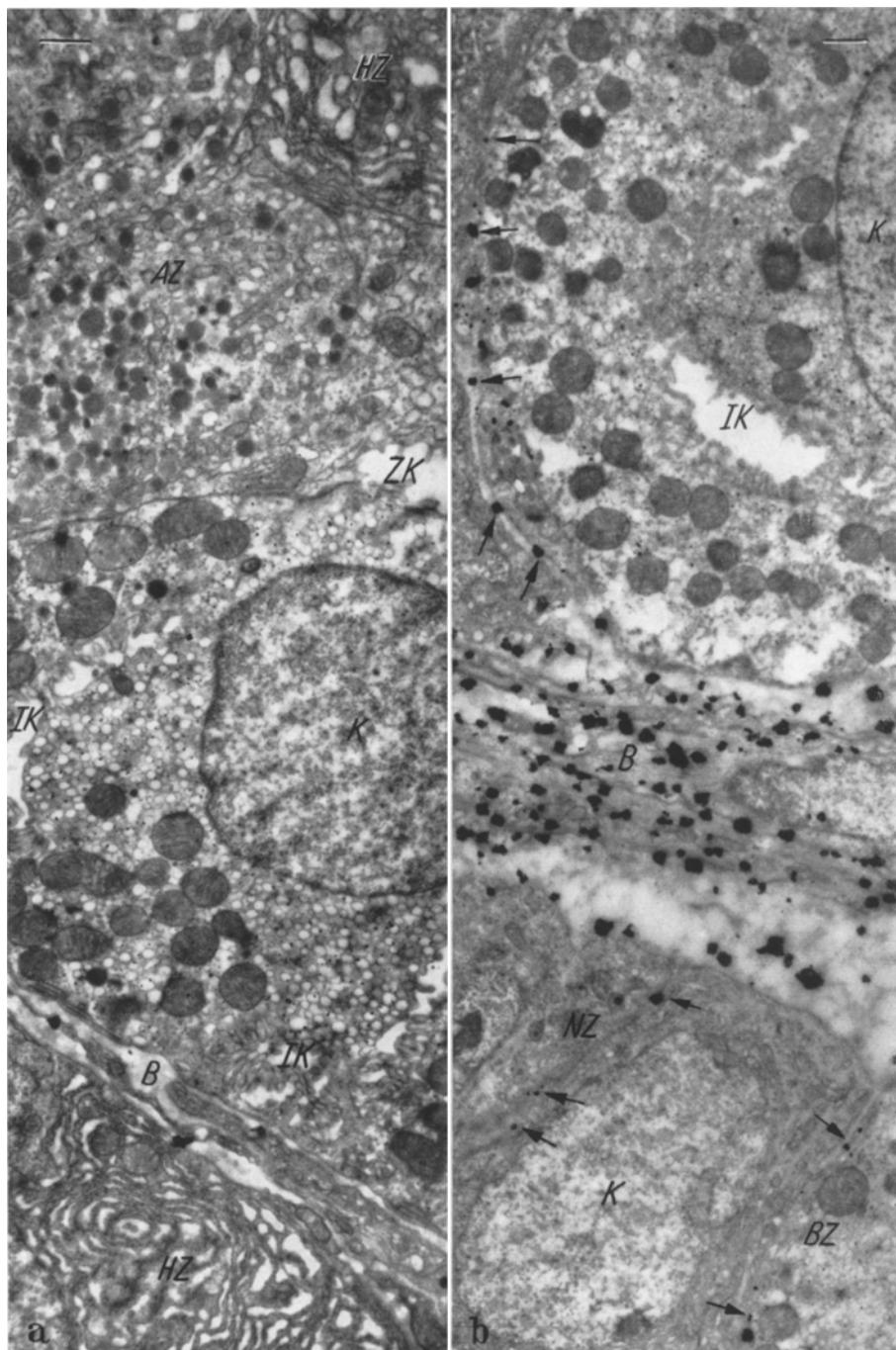


Abb. 3 a u. b. a Schrägschnitt durch die Fundusdrüsen der Maus (48 Std Hunger). Fix.: 1,5 % OsO_4 + 1 % Ag-Lactat; Salpetersäurebad. *HZ* Hauptzellen; *AZ* argyrophile Zelle; *K* Kern einer Belegzelle; *IK* binnenzellige Sekretkanälchen; *ZK* zwischenzelliger Sekretkanal; *B* intertubuläres Bindegewebe. Beachte die punktförmigen Silberchloridniederschläge ausschließlich in den Vakuolen der Belegzelle! Vergr. 7200:1. b Ausschnitt aus zwei Fundusdrüsen der Maus (48 Std Hunger). Fix.: 1,5 % OsO_4 + 1 %

werden. Diese Annahme steht im Einklang mit physiologischen und biochemischen Befunden. In den Interzellularräumen des Bindegewebes verschiedener Organe konnte nämlich auch mit biochemischen Methoden eine erhöhte Chloridkonzentration nachgewiesen werden (vgl. GERSH 1959). Aus dem intertubulären Bindegewebe dringt das Chlorid offensichtlich auch in die Interzellularräume zwischen den verschiedenen Drüsenzellen ein. Die Niederschläge markieren nämlich an manchen Stellen den Verlauf der Zellgrenzen (Abb. 3 b, *Pfeilmarkierungen*). Auch in Abb. 3 b erkennt man wieder Anhäufungen sehr kleiner Chloridausfällungen ausschließlich in den Belegzellen (obere Bildhälfte und unten rechts, *BZ*).

Die Beschränkung der Chloridniederschläge auf die Belegzellen soll an zwei anderen stärkeren Bildvergrößerungen nochmals deutlich gezeigt werden. Abb. 4 und 5 stammen aus einer Maus, deren Magenschleimhaut 15 min nach der Futterverabreichung fixiert wurde. Die Belegzellen enthalten jeweils in der Region zwischen Kern und Sekretkanälchen noch zahlreiche Vakuolen. Chloridniederschläge sind in beiden Belegzellen nur dort anzutreffen, wo auch Vakuolen liegen. Die Hauptzelle (Abb. 4, *HZ*), die deutlich an dem typischen Ergastoplasma zu erkennen ist, enthält keine Niederschläge. Selbst die argyrophilen Zellen (Abb. 5, *AZ*), die sich mit bestimmten Versilberungsmethoden histologisch anfärben lassen, zeigen keine nennenswerten Präzipitate. Das gleiche gilt für die Nebenzellen (Abb. 8, *NZ*).

Nachdem nun im elektronenmikroskopischen Größenordnungsbereich eine Anhäufung von Chloriden in den Belegzellen nachgewiesen ist, erhebt sich die Frage nach der genauen *Lokalisation innerhalb dieser Zellen* und nach *Lokalisationsunterschieden in den Zellen verschiedener Funktionszustände*, um mögliche Anhaltspunkte über den Funktionsrhythmus und darüber zu gewinnen, welche Zellstrukturen an der Sekretbildung bzw. -speicherung unmittelbar beteiligt sind.

In Abb. 6 ist ein vergrößerter Ausschnitt aus einer Belegzelle eines Hungertieres mit einem streckenweise längsgeschnittenen intrazellulären Sekretkanälchen (*IK*) dargestellt. Nur rechts von diesem Kanälchen ist das Zytoplasma von vielen Vakuolen erfüllt, in der linken oberen Bildecke sind sie nur vereinzelt anzutreffen. Lediglich in der Vakuolenregion ist das Chlorid massiert niedergeschlagen worden. Beim ersten Blick scheinen diese Niederschläge regellos verteilt zu sein. Bei einer genauen Prüfung erkennt man jedoch, daß die meisten Kristalle *innerhalb* der Vakuolen liegen, häufig auch an der Vakuolenmembran. Die meisten Kristalle, die frei im Grundplasma zu liegen scheinen, liegen in Wahrheit auch innerhalb von Vakuolen. An diesen Stellen sind die Vakuolen meist tangential angeschnitten, so daß die Membranen nur unscharf zur Darstellung kommen, wie deutlich zu erkennen ist. Da sehr viele Niederschläge an der Vakuolenwand liegen, ist ihre genaue Lokalisation lediglich schwerer festzustellen, wenn „Vakuolenkappen“ und nicht Querschnitte abgebildet sind. Das Zytoplasma in der oberen linken Bildhälfte, das nur sehr wenige Vakuolen enthält, zeigt auch nur wenige Niederschläge, die wiederum ausschließlich in den Vakuolen liegen (Abb. 6, *Pfeilmarkierungen*). Zusammenfassend darf also geschlossen

Ag-Lactat; Salpetersäurebad. B intertubuläres Bindegewebe mit zahlreichen und großen Chloridniederschlägen. Die Pfeile deuten auf Präzipitate in den Interzellularpalten zwischen verschiedenen Drüsenzellen. Beachte die punktförmigen Niederschläge in den Belegzellen (obere Bildhälfte und unten rechts, *BZ*)! *NZ* Nebenzelle. Vergr. 6100:1

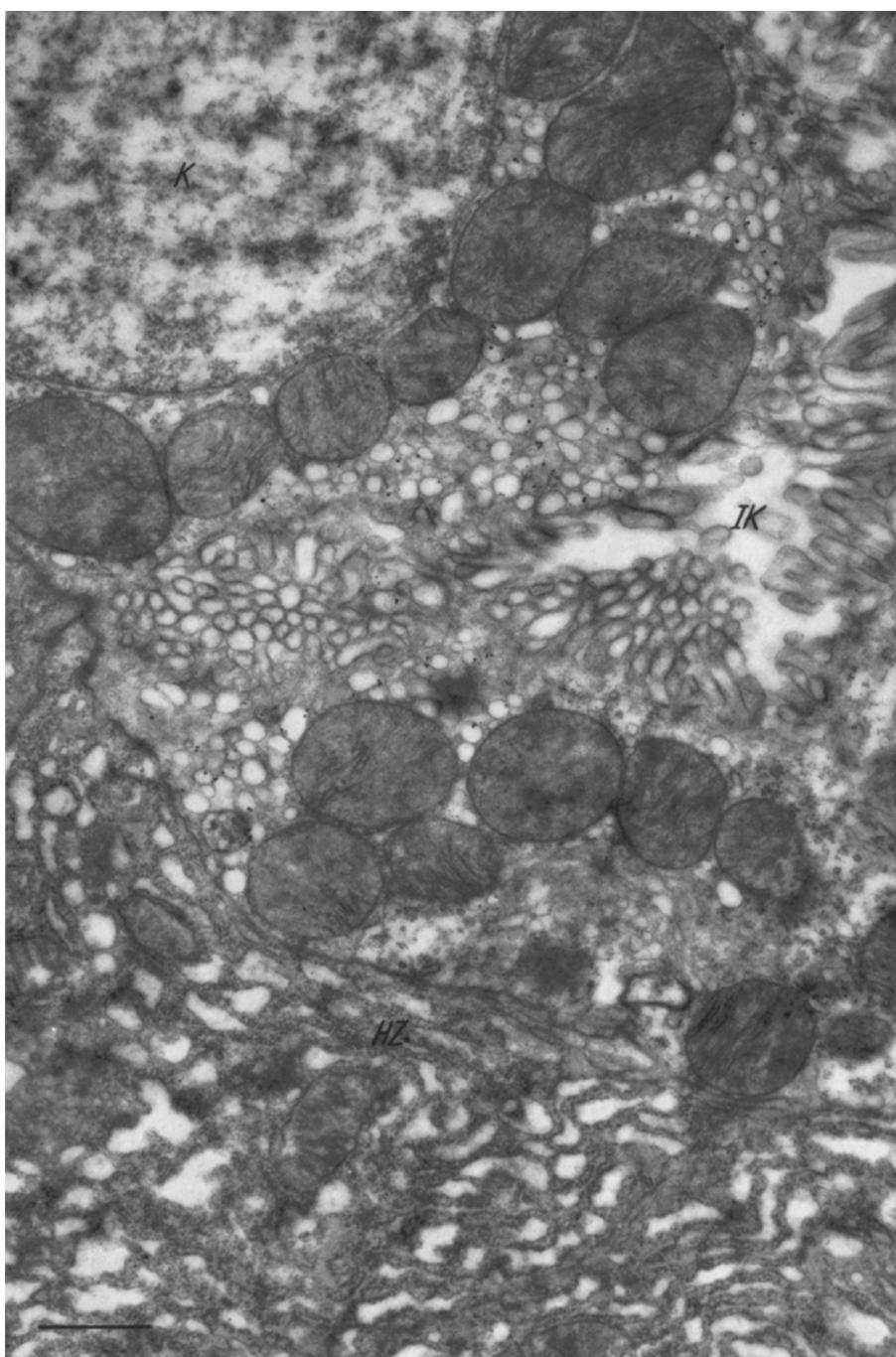


Abb. 4. Ausschnitt aus einer Fundusdrüse der Maus (48 Std Hunger, 15 min nach der Wiederfütterung). Fix.: 1,5 % OsO₄ + 1 % Ag-Lactat; Salpetersäurebad. IK intrazellulärer Canaliculus; K Kern einer Belegzelle; HZ Hauptzelle mit dem typischen Ergastoplasm. Die Chloridniederschläge liegen nur in den Vakuolen der Belegzelle. Vergr. 15000:1

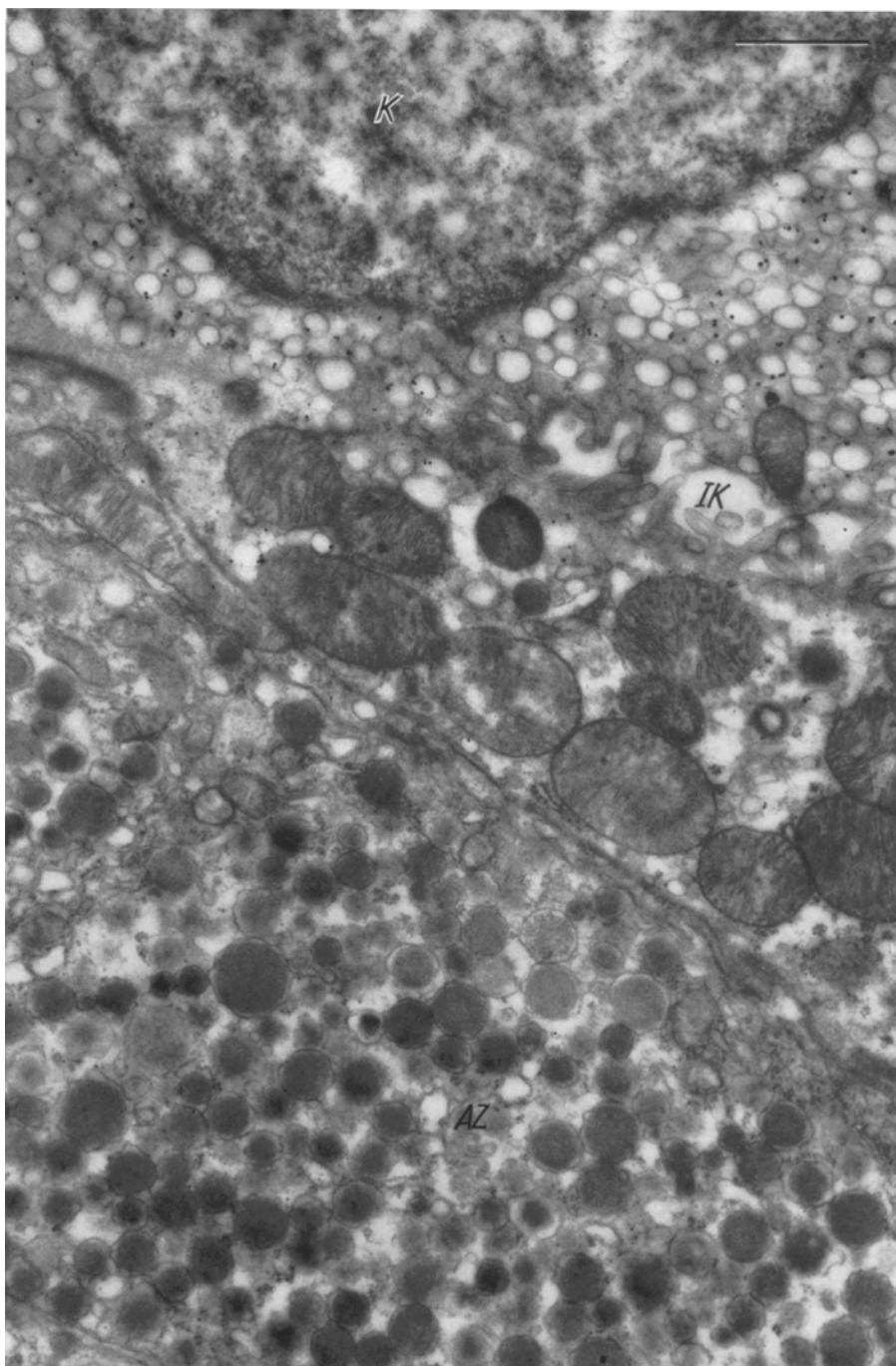


Abb. 5. Ausschnitt aus einer Fundusdrüse der Maus (48 Std Hunger, 15 min nach der Wiederfütterung). Fix.: 1,5 % OsO₄ + 1 % Ag-Lactat; Salpetersäurebad. AZ argyrophile Zelle; IK Korkkapillare; K Kern einer Belegzelle. Die Chloridniederschläge liegen nur in den Vakuolen der Belegzelle.

Vergr. 17700:1

25*

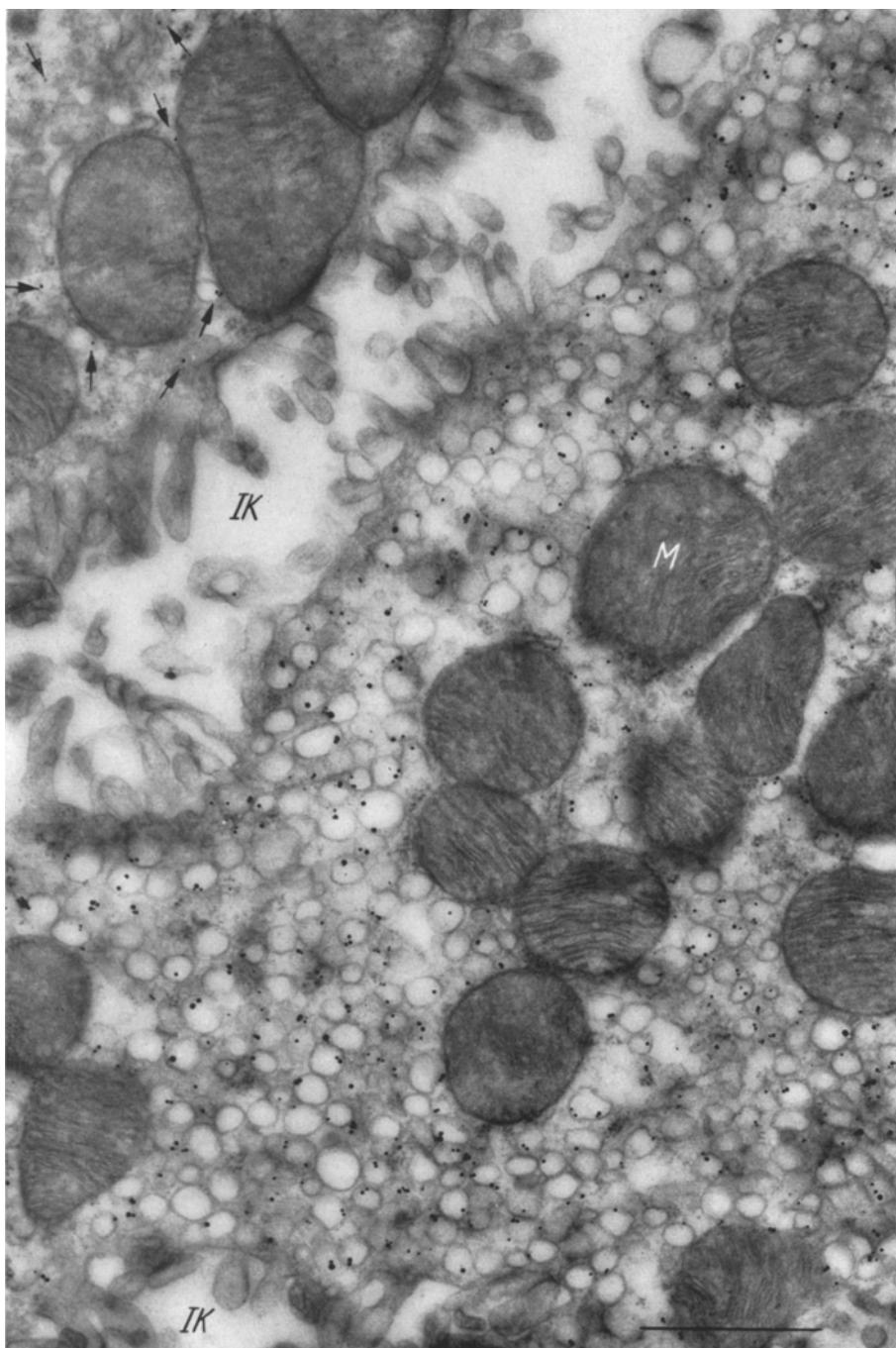


Abb. 6. Ausschnitt aus einer Belegzelle der Maus (48 Std Hunger). Fix.: 1,5 % OsO₄ + 1 % Ag-Lactat; Salpetersäurebad. *IK* intrazellulärer Canaliculus; *M* Mitochondrien. Die Silberchloridniederschläge liegen innerhalb des Vakuolensystems, häufig bevorzugt an den Vakuolenmembranen. Die obere linke Bildecke zeigt keine Niederschläge im Grundplasma, die wenigen Präzipitate liegen auch dort in Vakuolen (Pfeilmarkierungen). Vergr. 23500:1

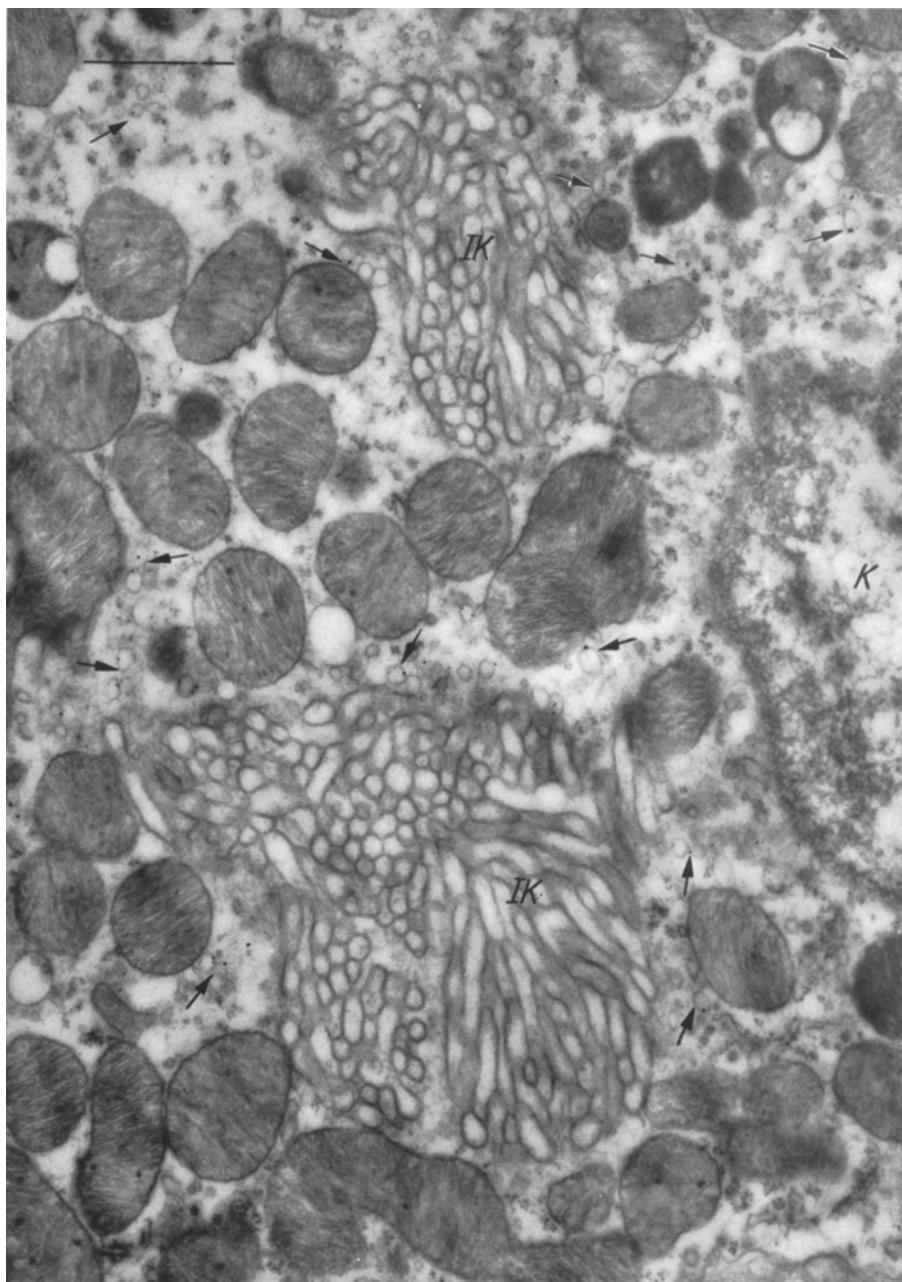


Abb. 7. Ausschnitt aus einer Belegzelle der Maus (48 Std Hunger, 30 min nach der Wiederfütterung). Fix.: 1,5 % OsO₄ + 1 % Ag-Lactat; Salpetersäurebad. Nach der Wiederfütterung sind die meisten Vakuolen verschwunden; in vereinzelten Vakuolen liegen noch wenige Chloridniederschläge (Pfeile).

Die Korbskapillaren (IK) werden von den verlängerten und vermehrten Mikrovilli ausgefüllt.
Vergr. 20 000:1

werden, daß das *Chlorid* offensichtlich *in den Vakuolen der Belegzellen angereichert* wird, wobei im einzelnen nicht entschieden werden kann, ob es sich frei im Lumen

befindet oder etwa an der Vakuolenmembran adsorbiert ist. Die bevorzugte Lage an den Vakuolenwänden könnte auch ihre Ursache darin haben, daß dort die Keimbildung bei der Fällungsreaktion günstiger gewesen ist als im Inneren. Da das Chlorid selbstverständlich nicht von den Belegzellen gebildet werden kann, muß es in freier oder gebundener Form von der Basis her in die Zelle und schließlich in das Vakuolenlumen transportiert werden, so daß auch diejenigen Fälle einleuchtend erklärt werden können, wo vereinzelte Kristalle im Grundplasma liegen.

Die funktionsbedingten Strukturunterschiede in den Belegzellen (vgl. Abb. 1 und 2) sind auch nach der Fixation in der silberhaltigen Osmiumlösung und nach der Behandlung mit Salpetersäure wiederum deutlich zu erkennen (vgl. Abb. 6 und 7). 30 min nach der Wiederfütterung sind nur noch sehr wenige Vakuolen um die Korbkapillaren herum festzustellen (Abb. 7). Die Mikrovilli dieser Kanälchen sind stark vermehrt und füllen sie in dichter Packung aus (Abb. 7, IK). Im Gegensatz zur normalen Fixierung ist das Lumen der Sekretkapillaren in den Belegzellen von Hungertieren jedoch stets geöffnet (Abb. 6). Es kann also letzten Endes nicht entschieden werden, welchen Zustand die Kanälchen *intra vitam* besitzen, da ihr Öffnungszustand offensichtlich fixationsbedingt ist.

Ebenso auffallend wie die funktionellen Strukturveränderungen sind auch die Unterschiede im Chloridgehalt der Belegzellen (vgl. Abb. 6 und 7): Nach der Wiederfütterung ist mit den Vakuolen auch das Chlorid aus den Zellen verschwunden. Lediglich dort, wo auch noch einige wenige Vakuolen erhalten sind, können noch vereinzelte Präzipitate aufgefunden werden (Abb. 7, Pfeilmarkierungen), ein weiterer Hinweis dafür, daß das Chlorid tatsächlich innerhalb der Vakuolen zu liegen scheint. Ein Vergleich der Abb. 6 mit Abb. 7 zeigt also sehr klar, daß das Chlorid während der Hungerperiode in den Belegzellen der Fundusdrüsen gespeichert und nach der Wiederfütterung offensichtlich in das Drüsenglumen ausgeschüttet wird, so daß die aus der funktionellen Morphologie allein geschlossene Bedeutung der Vakuolen — zumindest was das Chlorid betrifft — durch unsere Befunde bestätigt wird (vgl. HELANDER 1962).

Eine weitere Frage ist, auf welche Weise das *Chlorid aus den Vakuolen in das Drüsenglumen* gelangt. Es ist wiederholt vermutet worden, daß die Vakuolen sich zum Drüsenglumen oder zum Lumen der Korbkapillaren hin öffnen und ihren Inhalt entleeren (vgl. HELANDER 1962). In den intrazellulären Sekretkapillaren konnten wir nach der Wiederfütterung keine signifikanten Kristallanhäufungen beobachten. 15 min nach der Futterverabreichung fanden wir jedoch mehrere Belegzellen mit einer Chloridverteilung, wie sie in Abb. 8 wiedergegeben ist. Der apikale Zellbereich enthält keine nennenswerten Vakuolen mit Niederschlägen mehr. Zwischen den zahlreichen apikalen Mikrovilli im Drüsenglumen (L) liegen dagegen größere Konglomerate. Wenn dieses Bild das Stadium der Sekretausschüttung wiedergibt, dann dürfte das Chlorid im allgemeinen an der apikalen Oberfläche der Belegzellen frei werden. Es wäre durchaus vorstellbar, daß dabei die Vakuolen mit dem Drüsenglumen in Verbindung treten. Dieser Vorgang kann jedoch zur Zeit aus unserem Bildmaterial noch nicht bewiesen werden. Während die mit Chlorid angereicherten Belegzellen der Hungertiere (Abb. 6) und die Zellen nach der Chloridausschüttung von gefütterten Tieren (Abb. 7) extrem gegensätzliche Funktionszustände darstellen, dauert der Vorgang

der Ausschüttung wahrscheinlich nur eine kurze Zeit, so daß er sich morphologisch sehr viel schwerer fassen läßt. Das gleiche gilt für den Chloridtransport aus dem basalen Extrazellularraum in die Vakuolen. Die Klärung dieser Probleme liegt methodisch im Bereich des Möglichen und ist letzten Endes eine Frage des Zeitaufwandes. Allem Anschein nach sind die Mitochondrien nicht direkt am Chloridtransport beteiligt, da sie nie nennenswerte Niederschläge enthalten. Ihre energetische Beteiligung an den Transport- und Sekretionsvorgängen dürfte jedoch außer Zweifel stehen.

Auffällig ist, daß die sog. „*dense bodies*“ häufig salpetersäureresistente Silbersalze präzipitieren und daher wahrscheinlich auch eine *erhöhte Chloridkonzentration* aufweisen. Diese Tatsache dürfte wahrscheinlich jedoch nicht in Beziehung zu der Salzsäurebildung in den Belegzellen stehen, da die gleichen Gebilde der Hauptzellen und auch der Salzdrüsenzellen (KOMNICK 1963b) Silberniederschläge enthalten. Da diese Grana meist als Lysosomen im Sinne NOVIKOFFS (1961) gedeutet werden (bei der Salzdrüse konnte auch saure Phosphatase-Aktivität mit Hilfe der Elektronenmikroskopie in diesen Gebilden nachgewiesen werden [KOMNICK, unveröffentlicht]) und hydrolytische Enzyme mit einem Wirkungs optimum im sauren pH-Bereich besitzen, erscheint es nicht sehr abwegig, diesen Befund als Ausdruck eines gewissen Salzsäuregehaltes zu interpretieren.

In Abb. 9 b ist ein Querschnitt durch das Lumen einer Fundusdrüse einer gefütterten Maus im Bereich des Drüsenhalses wiedergegeben. Die Apices der Nebenzellen, die den Drüsengang umgrenzen, enthalten zahlreiche Schleimtröpfchen. Das Lumen (*L*) des Drüsenschlauches ist erfüllt von zahlreichen Chloridpräzipitaten. Nicht immer sind die Niederschläge so klein und relativ gleichmäßig; im Lumen tritt vielmehr häufig eine Zusammenlagerung zu größeren Konglomeraten auf, da eine Diffusion in einem größeren, wasserhaltigen Extrazellularraum erleichtert ist (vgl. KOMNICK 1963 b). Die Gleichmäßigkeit der Niederschlagsbildung ist hier wahrscheinlich auf den Gehalt an Mucin und Pepsin in der Drüsenlichtung zurückzuführen.

Abb. 9 a zeigt den Apex einer Schleimzelle (Hungertier), die direkt an das Magenlumen (*ML*) grenzt. In Übereinstimmung mit der Tatsache, daß auch der leere Magen noch eine saure Reaktion zeigt (Messung mit pH-Papier bei der Gewebeentnahme), finden sich im Lumen zahlreiche Chloridniederschläge. Diese liegen gehäuft in Kontakt mit der Zelloberfläche, vermutlich durch Adhäsionskräfte vor dem Verlust durch Ausschütteln bei der Entwässerung bewahrt. Das gleiche Phänomen konnten wir in dem relativ weiten Lumen der Zentralkanäle von Salzdrüsen beobachten (KOMNICK 1963b). Theoretisch müßte im Magenlumen nämlich eine gleichmäßige Niederschlagsverteilung zu erwarten sein. Da jedoch diese Präzipitate gewissermaßen frei im Raum liegen und keine Stütze an fixierten Strukturen finden, werden sie durch den wiederholten Flüssigkeitswechsel bei der Einbettungsprozedur mechanisch herausgewaschen, während die Kristalle, die unmittelbar an den Zelloberflächen liegen, offensichtlich diesem Schicksal entgehen. Daß in Abb. 9 a auch kleinere Niederschläge in einiger Entfernung von der Zelle erhalten geblieben sind, dürfte wohl auf den Gehalt an Magenschleim und Nahrungsresten zurückzuführen sein. Diese Vermutung wird durch Abb. 10 bestätigt.

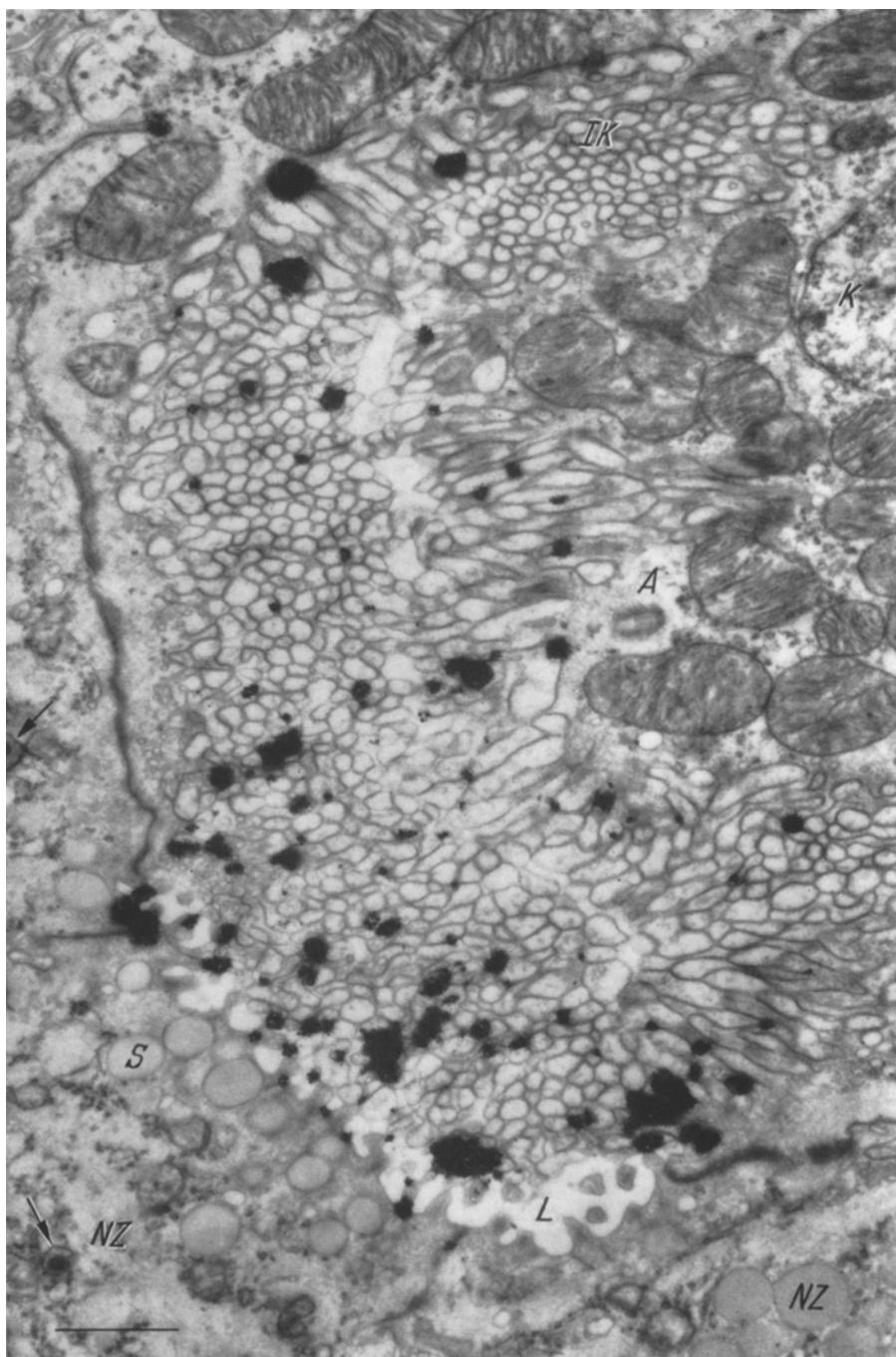


Abb. 8. Ausschnitt aus einer Fundusdrüse der Maus (48 Std Hunger, 15 min nach der Wiederfütterung). Fix.: 1,5 % OsO₄ + 1 % Ag-Lactat; Salpetersäurebad. NZ Nebenzellen mit apikalen Schleimtropfen (S) und den typischen Grana innerhalb der Mitochondrien (Pfeile). K Kern einer Belegzelle; L Drüsenumen; IK Mündung eines binennzelligen Sekretkanals. Im apikalen Zellbereich (A) der Belegzelle liegen keine kristallhaltigen Vakuolen mehr. Größere Konglomerate von Chloridniederschlägen liegen in dem von den vermehrten apikalen Mikrovilli großenteils ausgefüllten Drüsenumen (L). Stadium der Sekretausschüttung! Vergr. 16500:1

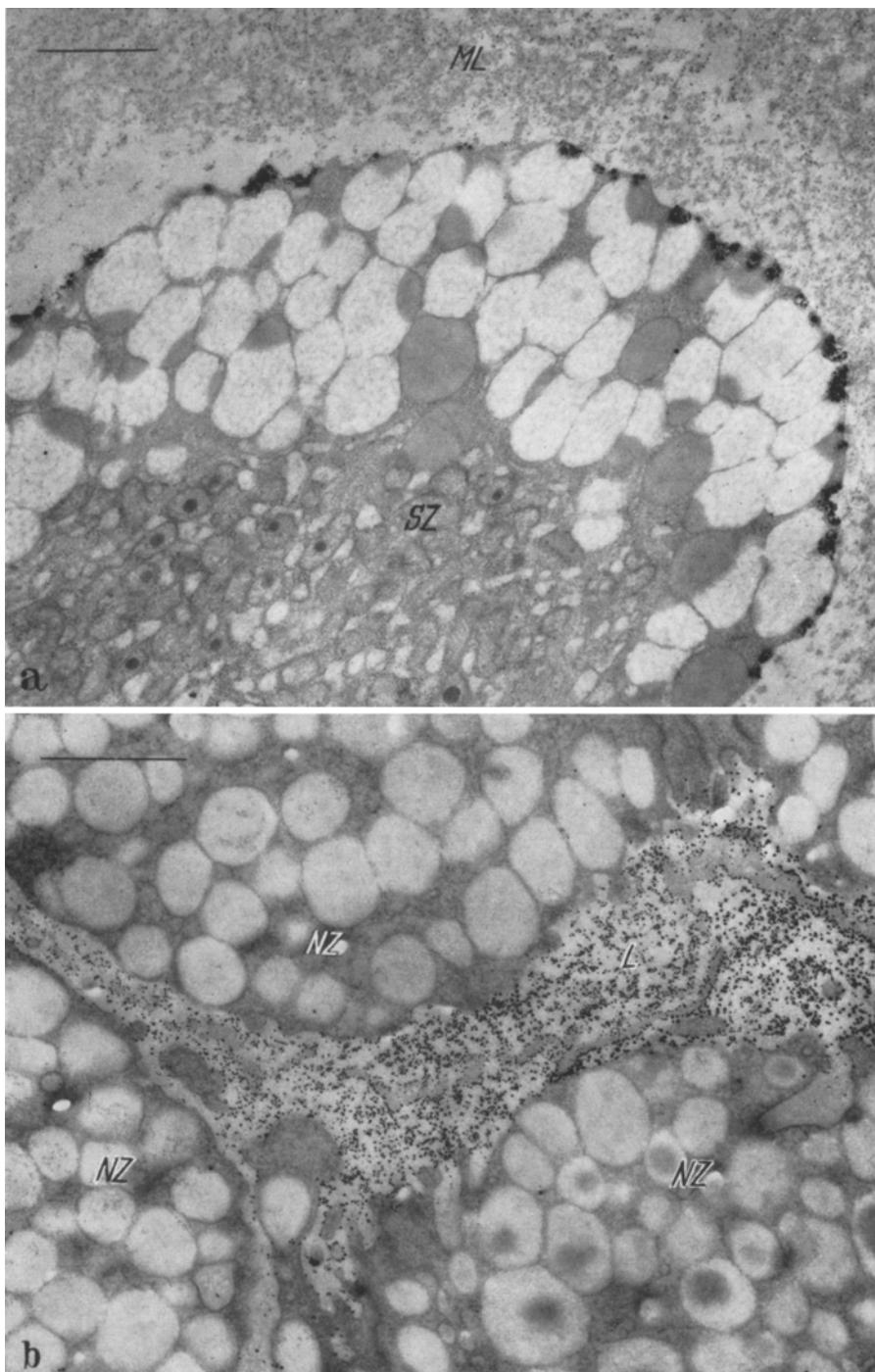


Abb. 9a u. b. a Apex einer Oberflächenepithelzelle der Magenschleimhaut und Magenlumen (*ML*) der Maus (48 Std gehungert). Fix.: 1,5 % OsO_4 + 1 % Ag-Lactat. Ansammlungen von Chloridniederschlägen besetzen die Oberfläche der Schleimzelle (*SZ*); kleinere Niederschläge liegen im Magenlumen. Vergr. 16 200:1. b Schnitt durch eine Fundusdrüse der Maus (48 Std Hunger, 15 min nach der Wiederfütterung). Fix.: 1,5 % OsO_4 + 1 % Ag-Lactat. *NZ* Apices von Nebenzellen mit Schleimtröpfchen. Die Chloridniederschläge erfüllen das Drüsenlumen (*L*). Vergr. 20 000:1

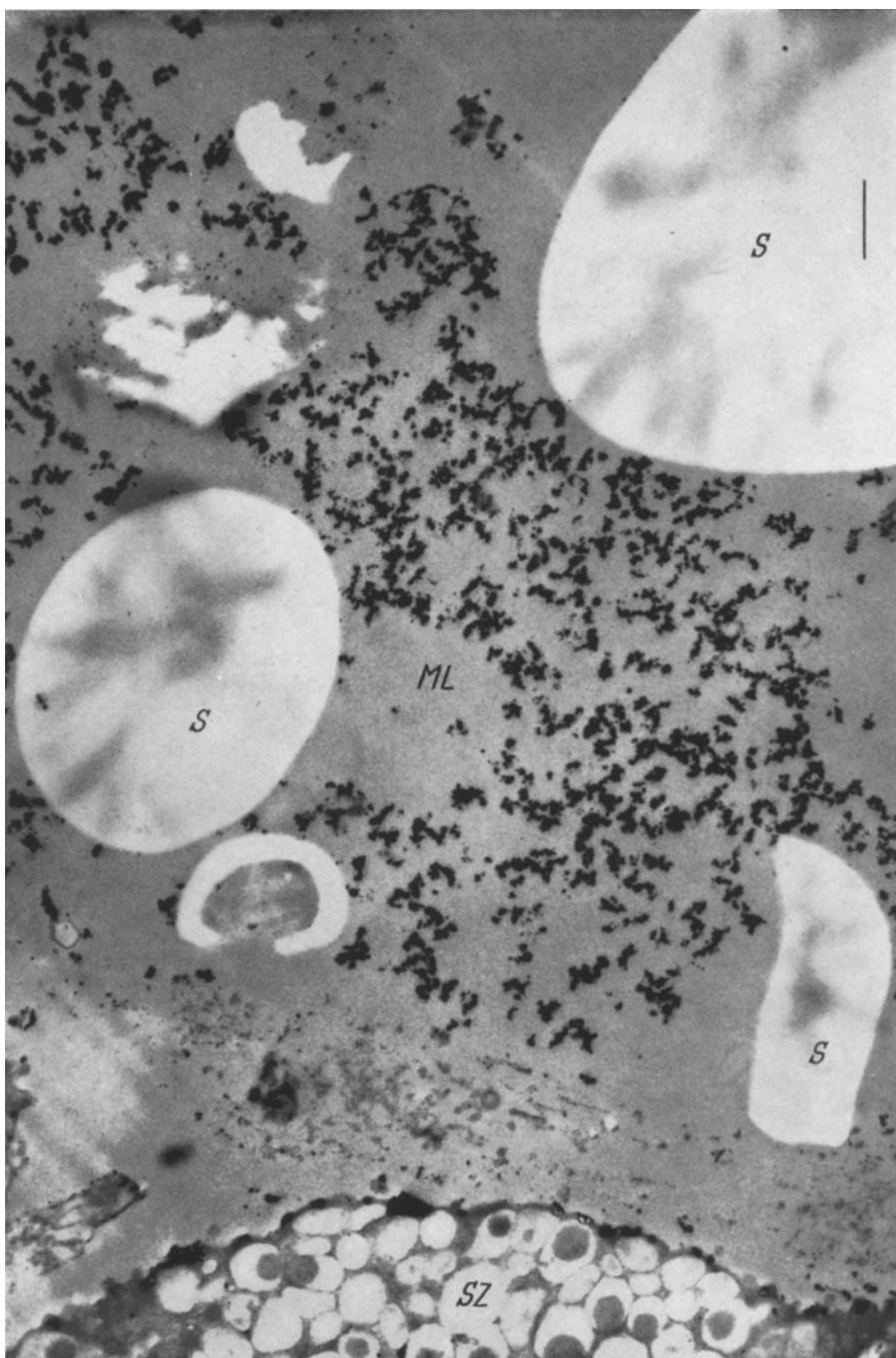


Abb. 10. Ausschnitt aus dem Magenlumen der Maus (48 Std Hunger, 15 min nach der Wiederfütterung). Fix.: 1,5 % OsO_4 + 1 % Ag-Lactat; Salpetersäurebad. SZ Apex einer Oberflächenepithelzelle mit Schleimtröpfchen. S Stärkekörner. Die Chloridniederschläge liegen im Magenlumen (ML) und an der Oberfläche der Schleimzelle. Vergr. 10 600:1

Abb. 10 zeigt einen Ausschnitt aus einer Krypte der Magenschleimhaut. Im unteren Bildteil ist der schleimtropfenhaltige Apex einer Oberflächenepithelzelle zu erkennen. Diese Krypten sind zum Teil mikroskopisch kleine periphere Taschen des Magenlumens, die durch Faltenbildung der Schleimhaut entstanden sind. Der Inhalt dieser engen Taschen ist natürlich durch die angrenzenden Wände besser abgestützt als der des freien Magenlumens, so daß dort bereits 15 min nach Beginn der Nahrungsaufnahme auch noch nach der Einbettung die gefressenen Stärkekörner und deren Trümmer aufgefunden werden können. Die Außenseite der Epithelzelle ist auch hier wieder dicht mit Präzipitaten besetzt. Im Lumen der Krypten sind aber hier aus den genannten Gründen die Chloridniederschläge der Magensalzsäure sehr viel zahlreicher erhalten geblieben. Dieser Befund hat allerdings seine Ursache teilweise auch in der verstärkten Chlorid- bzw. Salzsäureausschüttung nach der Wiederfütterung, wie Schnitte durch entsprechende Stellen der Magenschleimhaut hungernder Mäuse gezeigt haben.

Diskussion

Trotz zahlreicher Untersuchungen konnte bis heute noch nicht einwandfrei geklärt werden, welche genaue Form das nachgewiesenermaßen funktionell bedeutsame endoplasmatische Membransystem der Belegzellen *intra vitam* besitzt. Wiederholt wurden unregelmäßige Anhäufungen isolierter Vakuolen, teils auch zu Reihen angeordnete Vakuolen im Verein mit kurzen Kanälen gefunden und abgebildet (SEDAR 1961a und b, SEDAR und FRIEDMANN 1961, HELANDER 1962). GUSEK (1961) beschreibt ein „parakanalikuläres Vakuolensystem“ in den Belegzellen des menschlichen Magens und deutet es als eine besondere Funktionsform des endoplasmatischen Retikulums. Ito (1961) konnte dagegen in 13 verschiedenen Spezies, einschließlich der Maus, tubuläre Strukturen eines zusammenhängenden, agranulären endoplasmatischen Retikulums nachweisen. Dieses Membransystem scheint offensichtlich sehr labil zu sein, und seine Form kann durch die angewandten Präparationsmethoden verändert werden (Ito 1961). Ito nimmt an, daß die tubuläre Form der wahren Gestalt im Leben entspricht, da die Aufrechterhaltung dieser Form mehr Energie erfordert als eine sphärische Form, so daß eher an eine Fragmentierung des tubulären Systems und Transformation in einzelne Vakuolen als an ein Zusammenfließen einzelner Vakuolen zu einem zusammenhängenden Kanalsystem zu denken ist. Nach Ito (1961) sind die kritischen Stadien für die Erhaltung des tubulären Systems die Entwässerung und das Einbettungsmittel. Diese Ansicht wird bis zu einem gewissen Grad durch die Lokalisation der Chloridniederschläge unterstützt. Wenn nämlich die Fragmentierung bereits während der Fixation und Fällung abläuft, wäre theoretisch die Möglichkeit gegeben, daß Teile des Kanalinhalttes entweichen könnten, so daß auch mehr Chlorid im Grundplasma niedergeschlagen werden müßte. Bei der Fragmentierung zu einem späteren Zeitpunkt — vor allem im Einbettungsmedium — erhebt sich allerdings die Frage, ob dann die Membranen noch so plastisch sind, daß sie beim Zerfall des Kanalsystems noch in Vakuolenformen zusammenfließen können. Dieses müßte jedoch der Fall sein, da keine Membranbruchstellen oder Diskontinuitäten beobachtet werden konnten.

Sowohl nach der Os/Cr- als auch nach der Os/Ag-Fixierung erschien das Membransystem in vakuoliger Form und wird hier daher zum Zwecke der besseren

Orientierung auf den Abbildungen auch dementsprechend benannt, ohne daß wir damit etwas über die tatsächliche Form *intra vitam* aussagen wollen. Obwohl letzten Endes auch die wahre Gestalt für den genauen Prozeß der intrazellulären Sekretbildung von großer Bedeutung sein dürfte, ist zunächst schon die Tatsache von Interesse, daß die Belegzellen während der Hungerperiode überhaupt ein großflächiges intrazelluläres Membransystem ausbilden, das nach der Fütterung reduziert wird. In diesem Funktionszustand ist dagegen die apikale Zellmembranoberfläche und deren Fortsetzung in den binennzelligen Sekretkanälchen deutlich vergrößert. Diese Membranoberflächen trennen also als Phasengrenzen (RUSKA 1962) in den beiden Funktionszuständen jeweils zwei verschiedene Phasen voneinander. In einem Falle ist die Oberfläche zwischen Grundplasma und einer innerzelligen, offenbar mehr wäßrigen Phase, den Zisternen der Vakuolen, stark ausgeprägt, im anderen Falle wird die Membranoberfläche zwischen Grundplasma und Extrazellularraum vergrößert. Diese starke Ausprägung von Grenzflächen und ihre Verlagerung innerhalb der verschiedenen Funktionsstadien dürfte wohl kaum ohne zellphysiologische Bedeutung sein.

Durch die Chloridkontrastierung konnte gezeigt werden, daß dieser Stoff in dem intrazellulären Membransystem gespeichert wird. Aus den vorgelegten Abbildungen geht deutlich hervor, daß die *Chloridkonzentration in den Vakuolen größer ist als im Grundplasma*. Dieses Chlorid ist durch eine Membran vom Grundplasma getrennt, so daß eventuelle Wirkungen auf das Grundplasma, beispielsweise osmotischer Art, ausgeschlossen oder zumindest herabgesetzt werden. Durch diesen Befund wird also die Bedeutung des Konzepts über die Vielphasigkeit der Zelle von RUSKA (1962) bekräftigt. Die Zelle vermag offenbar die Wechselwirkung bestimmter Substanzen mit dem Zytoplasma dadurch zu verhindern, indem sie sie in intrazelluläre Vakuolen einschließt und dadurch innerhalb des Zelleibes verschiedene Räume unterschiedlicher Stoffzusammensetzung und -konzentration schafft (vgl. auch KOMNICK 1963a über die funktionelle Deutung der Vakuolen in den Sammelkanalepithelzellen der Salzdrüse).

Da das Chlorid in den Vakuolen angereichert wird, muß zwischen Grundplasma und Vakuolenlumen via Vakuolenmembran ein aktiver Transportmechanismus postuliert werden, wenn das Chlorid nicht passiv anderen vortransportierten Stoffen, beispielsweise Wasserstoffionen, folgt. Über den Gehalt der Vakuolen an anderen Stoffen können wir aus unseren Befunden keine Aussagen ableiten. Ungeachtet der Möglichkeit, ob das Chlorid aktiv oder passiv in die Vakuolen transportiert wird, muß es die Vakuolenwand passieren. Werden jedoch Substanzen durch eine Membran hindurch von einer Phase in eine andere transportiert, so ist bei sonst konstanten Gegebenheiten die Transportkapazität um so größer, je größer die Membranoberfläche wird. Eine andere Deutungsmöglichkeit wäre, die Vergrößerung der Membranoberfläche einfach als zwangsläufige Folge der Sekretanreicherung anzusprechen. Eine solche Erklärung allein würde jedoch keineswegs der Dynamik gerecht, die wir diesen Zellstrukturen zumessen müssen. Beide Möglichkeiten sind denkbar: Erhöhung der Transportkapazität und Vergrößerung der intrazellulären Sekretbehälter.

Die funktionelle Bedeutung der vergrößerten Grenzfläche Grundplasma — Extrazellularraum nach der Fütterung der Mäuse ist schwerer zu erklären. SEDAR (1961b) konnte in der salzsäuresezernierenden Magenschleimhaut von

Rana catesbeiana beobachten, daß die intrazellulären Vakuolen und Kanälchen der Belegzellen dichter an die apikale Zelloberfläche und an die intrazellulären Korbkapillaren heranrücken und sich auch stellenweise zum Extrazellularraum hin öffnen. Wenn der gespeicherte Vakuoleninhalt durch einen umgekehrten Pinozytose-Vorgang entleert wird, muß die Vakuolenmembran mit der Zellmembran fusionieren, so daß die Vergrößerung der Zellmembranoberfläche auf den Extrusionsvorgang zurückgeführt werden kann („Membranfluß“). Es wäre jedoch auch denkbar, daß diese Vergrößerung ebenfalls Ausdruck erhöhter Transportaktivität der Zelle ist, daß beispielsweise Wasserstoffionen aus dem Grundplasma durch diese Membranen freigesetzt und in das Drüsenumen ausgeschieden werden. Weiterhin könnte die stärkere Ausprägung und Vermehrung der Mikrovilli auch auf resorptive Prozesse hindeuten, die zu einer Konzentrationserhöhung der Salzsäure in den Drüsenschläuchen führen würden.

Diese spekulativen Interpretationsversuche bedürfen jedoch einer experimentellen Klärung. Durch die vorliegende Untersuchung konnte lediglich nachgewiesen werden, daß die Belegzellen in den Fundusdrüsen der Maus während der Hungerperiode in ihren intrazellulären Vakuolen Chlorid speichern, das sie nach der Wiederfütterung in das Drüsenumen ausschütten. Diese Zellen sezernieren also nicht laufend, sondern besitzen einen ausgeprägten Funktionsrhythmus. Der Funktionsrhythmus verläuft jedoch nicht in allen Zellen synchron. Es wurde bereits erwähnt, daß auch bei Hungertieren einige Belegzellen mit nur wenigen Vakuolen aufgefunden werden können. Dementsprechend ist auch nach der Fixierung im Os/Ag-Gemisch in einigen Belegzellen kein oder nur wenig Chlorid nachzuweisen, d. h. einige Zellen scheiden auch während der Zeit des leeren Magenzustandes ihr Sekret aus. Umgekehrt konnten wir auch 30 min nach der Wiederfütterung, zu einer Zeit, da die meisten Zellen kein Chlorid enthalten, solche mit Niederschlägen beobachten.

Der hier vorgenommene histochemische Chloridnachweis erlaubt verständlicherweise keine Aussage darüber, ob das Chlorid bereits in ionaler Form in den Vakuolen der Belegzellen vorliegt, da es durch die Silberionen aus einer eventuellen Bindung an andere Substanzen gelöst und daher niedergeschlagen sein kann. Es wurde nämlich auch vermutet, daß die Salzsäure erst an der Oberfläche der Magenschleimhaut durch Hydrolyse freigesetzt wird (vgl. STÖHR, v. MÖLLENDORFF u. GOERTTLER 1955). Neuere physiologische Untersuchungen machen es wahrscheinlich, daß Wasserstoff auf fermentativem Wege in der apikalen Cytoplasmaregion und im Bereich der Sekretkanälchen angereichert wird, und dann bereits in ionisierter Form aus den Belegzellen austreten soll (CRANE, DAVIES und LONGMUIR 1948). Diese Lokalisationsangabe spricht dafür, daß auch der Wasserstoff möglicherweise ebenso wie das Chlorid in den intrazellulären Vakuolen gespeichert wird. In den genannten Zytoplasmaregionen konnten SCHIEBLER und VOLLRATH (1959) einen besonderen Reichtum an Karboanhydrase nachweisen, was insofern von besonderem Interesse ist, als nach physiologischen Vorstellungen die Wasserstoffionen der Magensalzsäure aus einer Verbindung des CO_2^- und H_2O -Stoffwechsels stammen sollen, während das Chlorid letzten Endes durch den Kochsalzgehalt des Blutes bereitgestellt wird. Unmittelbar dürfte es jedoch aus den intertubulären Bindegewebsräumen kommen, die, wie bereits erwähnt, in der Regel eine große Niederschlagsdichte

aufweisen. (Zur Biochemie der Salzsäurebildung in der Magenschleimhaut vgl. KRZYWANEK u. FLASCHENTRÄGER 1954 und DAVIES 1957.)

Zusammenfassung

1. Die meisten Belegzellen in den Fundusdrüsen der Magenschleimhaut hungernder Mäuse zeigen einen vakuoligen Strukturaspekt. Nach der Fütterung werden diese Vakuolen zahlenmäßig stark reduziert unter gleichzeitiger Vergrößerung der Zelloberfläche an den Apices und in den binnenzelligen Sekretkanälchen. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zur funktionellen Morphologie der Belegzellen der Maus stehen im Einklang mit den Befunden von HELANDER (1962).

2. Durch Fixation in einem Gemisch von 1,5% Osmiumtetroxyd und 1% Silberlactat konnte das Chlorid erstmalig im elektronenmikroskopischen Größenordnungsbereich sichtbar gemacht und in den Zellen der Magenschleimhaut lokalisiert werden. Neben regelmäßig auftretenden Präzipitaten in den Bindegewebsräumen zwischen den einzelnen Drüsenschläuchen findet man ausschließlich in den Belegzellen Anhäufungen von Chloridniederschlägen. Diese Zellen dürfen daher mit Recht als Produzenten der Magensalzsäure gelten.

3. Die genaue Chloridlokalisation innerhalb der Belegzellen und die unterschiedliche Niederschlagsdichte in Belegzellen verschiedener Funktionszustände gestatten Aussagen über die Beteiligung einzelner Feinstrukturkomponenten an der Salzsäuresekretion sowie über den Sekretionsrhythmus der Belegzellen. Bei den hungernden Mäusen liegt das Chlorid in den zahlreichen Vakuolen, die in diesem Funktionszustand vorwiegend die apikalen Zellbereiche und die Regionen um die binnenzelligen Sekretkanälchen herum erfüllen. Bei den wiedergefütterten Mäusen ist der größte Teil des Chlorids aus den meisten Belegzellen verschwunden. Gleichzeitig findet eine deutliche Verringerung der Vakuolenanzahl und -größe im Zytoplasma statt. In diesem Funktionsstadium findet man eine größere Niederschlagsdichte im Lumen der Fundusdrüsen und des Magens. Das Chlorid muß also zunächst aus den intertubulären Bindegewebsräumen überwiegend an der Zellbasis in die Belegzellen eintreten und durch das Grundplasma in die Vakuolen transportiert werden. Offensichtlich wird es während der Hungerperiode in dem Vakuolensystem gespeichert und zu Beginn der Nahrungsaufnahme in die Drüsennichtung ausgeschüttet. Es arbeiten jedoch nicht alle Belegzellen in diesem Sekretionszyklus synchron.

4. Unsere Untersuchungen an Salzdrüsen (KOMNICK 1963 b) und an der Magenschleimhaut haben die prinzipielle Möglichkeit eines histochemischen Ionen-nachweises mit Hilfe der Elektronenmikroskopie gezeigt. Die erzielte Lokalisationsgenauigkeit der gefällten Ionen im elektronenoptischen Dünnschnittsbild tierischer Gewebe macht deutlich, daß die Diffusionsgefahr im allgemeinen überschätzt wurde. Mit relativ einfachen Präparationsmethoden lassen sich durchaus eine gute Strukturerhaltung der Zellen sowie eine empfindliche und ortsgenauie Niederschlagsbildung erreichen. Die mit dieser Methode erzielten Ergebnisse (s. auch KOMNICK 1963b) machen deutlich, daß die Möglichkeit der elektronenmikroskopischen Ionenlokalisation der mikromorphologischen Zellforschung neue Wege zum Studium der strukturellen und funktionellen Organisation der Zelle eröffnet. Insbesondere dürfte diese Methode auch ein geeignetes

Hilfsmittel zur Klärung pathologischer Fragestellungen bei der Salzsäurebildung in der Magenschleimhaut sein.

Herrn Prof. Dr. K. E. WOHLFARTH-BOTTERMANN gilt mein besonderer Dank für sein reges Interesse an den Untersuchungen.

Literatur

- BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 4. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme 1962.
- CRANE, E. G., R. E. DAVIES and N. M. LONGMUIR: Relations between hydrochloric acid secretion and electrical phenomena in frogs gastric mucosa. Biochem. J. **48**, 321—336 (1948).
- DAVIES, R. E.: Gastric hydrochloric acid production — the present position. In: Metabolic aspects of transport across cell membranes, edit. Q. R. MURPHY. Madison: University of Wisconsin Press 1957.
- DAWSON, A. B.: Microchemical studies on the formation of hydrochloric acid by the stomach. Anat. Rec. **29**, 355 (1925).
- FITZGERALD, M. P.: The origin of the hydrochloric acid in the gastric tubules. Proc. roy. Soc. **83**, 56—94 (1910).
- GERSH, I.: Fixation and staining. In: The Cell, vol. I, edis. J. BRACHET and A. E. MIRSKY. New York and London: Academic Press 1959.
- GREENWOOD, M.: Observations of the gastric glands of the pig. J. Physiol. **5**, 195—208 (1885).
- GROEBBELS, F.: Neue Untersuchungen zur histologischen Physiologie der Magendrüsen. Münch. med. Wschr. **69**, 1622—1623 (1922).
- GUSEK, W.: Zur ultramikroskopischen Cytologie der Belegzellen in der Magenschleimhaut des Menschen. Z. Zellforsch. **55**, 790—809 (1961).
- HARVEY, B. C. H., and R. R. BENSLEY: Upon the formation of the hydrochloric acid in the foveolae and on the surface of the gastric mucous membrane and the non acid character of the content of the gland cells and lumina. Biol. Bull. **23**, 225—249 (1912).
- HELANDER, H. F.: Ultrastructure of fundus glands of the mouse gastric mucosa. J. Ultrastruct. Res., Suppl. **4**, 1—123 (1962).
- ITO, S.: The endoplasmic reticulum of gastric parietal cells. J. biophys. biochem. Cytol. **11**, 333—347 (1961).
- KOMNICK, H.: Elektronenmikroskopische Lokalisation von Na^+ und Cl^- in Zellen und Geweben. Protoplasma (Wien) **55**, 414—418 (1962).
— Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur funktionellen Morphologie des Ionentransportes in der Salzdrüse von *Larus argentatus*. IV. Teil. Funktionelle Morphologie der Epithelzellen des Sammelkanals. Protoplasma (Wien) (im Druck) (1963 a).
—, u. U. KOMNICK, Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur funktionellen Morphologie des Ionentransportes in der Salzdrüse von *Larus argentatus*. V. Teil. Experimenteller Nachweis der Transportwege. Z. Zellforsch. **60**, 163—203 (1963 b).
- KRZYWANEK, F. W., u. B. FLASCHENTRÄGER: Die Biochemie der Verdauung. In: Physiologische Chemie, Bd. II/1a, hrsg. v. B. FLASCHENTRÄGER u. E. LENNARTZ. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.
- LESCHKE, E.: Untersuchungen über die Sekretion des Magensaftes. Med. Klin. **21**, 1145—1149 (1925).
- LOPEZ-SUAREZ, J.: Zur Kenntnis der Salzsäurebildung im Magen. Biochem. Z. **46**, 490—499 (1912).
- MACALLUM, A. B.: Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung. Ergebni. Physiol. **7**, 552—652 (1908).
- MOSSE, M.: Zur Biochemie des Säugetiermagens. Zbl. Physiol. **17**, 217—218 (1903).
- NOVIKOFF, A. B.: Lysosomes and related particles. In: The cell, Bd. II, Hrsg. J. BRACHET and A. E. MIRSKY. New York and London: Academic Press 1961.
- PLENK, H.: Der Magen. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. V/2, Hrsg. W. v. MÖLLENDORFF. Berlin: Springer 1932.

- RUSKA, H.: Über funktionelle Konsequenzen der Vielphasigkeit der Zelle. IV. Internat. Kongr. für Neuropathologie, Proc. II, S. 42—49. Stuttgart: Georg Thieme 1962.
- SCHIEBLER, T. H., u. L. VOLLRATH: Über die intrazelluläre Verteilung der Carboanhydrase in den Belegzellen menschlicher und tierischer Mägen. Naturwissenschaften **46**, 232—233 (1959).
- SEDAR, A. W.: Electron microscopy of the oxytic cell in the gastric glands of the bullfrog (*Rana catesbeiana*). I. The non-acid-secreting gastric mucosa. J. biophys. biochem. Cytol. **9**, 1—18 (1961a).
- Electron microscopy of the oxytic cell in the gastric glands of the bullfrog, *Rana catesbeiana*. II. The acid-secreting gastric mucosa. J. biophys. biochem. Cytol. **10**, 47—57 (1961b).
- , and M. H. F. FRIEDMAN: Correlation of the fine structure of the gastric parietal cell (dog) with functional activity of the stomach. J. biophys. biochem. Cytol. **11**, 349—363 (1961).
- STÖHR, PH., W. v. MÖLLENDORFF u. K. GOERTTLER: Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Jena: VEB Gustav Fischer 1955.
- WOHLFARTH-BOTTERMANN, K. E.: Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. Naturwissenschaften **44**, 287—288 (1957).
- ZIMMERMANN, K. W.: Beitrag zur Kenntnis des Baues und der Funktion der Fundusdrüsen im menschlichen Magen. Ergebni. Physiol. **24**, 281—307 (1925).

Dr. H. KOMNICK,
Zentrallaboratorium für angewandte Übermikroskopie am Zoologischen
Institut der Universität, 53 Bonn, Poppelsdorfer Schloß