Laboratorium für Ultrastrukturforschung der Zellen und Gewebe der Tschechoslowakischen
Akademie der Wissenschaften (Prof. Dr. J. WOLF) und Anatomisches Institut I der
Universität Heidelberg (Prof. Dr. H. FERNER)

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Langerhansschen Inseln bei Grünleguan (*Iguana iguana*)

Milan TITLBACH

Eingegangen am 8. Juli, 1970

Die Angaben der Literatur über den Bau der Langerhansschen Inseln bei den Reptilien sind sehr lückenhaft. Dasselbe gilt über die Unterordnung der Echsen. Neben den ältesten Beschreibungen (GIANELLI und GIACOMINI, 1896; DIAMARE, 1899), die mit ganz unspezifischen Färbungsmethoden gearbeitet haben, treffen wir neue lichtmikroskopische Befunde in den Mitteilungen von MILLER und WURSTER (1956, 1958) und MILLER (1962), die mittels modernen Färbungs- und Versilberungsmethoden das Inselgewebe bei 15 verschiedenen Species untersucht haben. Nach diesen Mitteilungen liegen die meisten Inseln im milznahen Teil und bei einigen Vertretern sollen diese sehr groß sein. In einzelnen Fällen hat MILLER (1962) in den Inseln größere residuale Lumina gefunden (*Iguana iguana*, *Ctenosaura pectinata* und teilweise auch *Lacerta viridis*). Die A- und B-Zellen sind vermischt. In einigen Fällen haben MILLER und WURSTER auch die D-Zellen gefunden. Durch die Versilberungsmethoden (bei *Eumeces obsoletus*) wurde auch gezeigt, daß die A-Zellen im Vergleich zu den argyrophilen Zellen überwiegen. Manche dieser Angaben entsprechen nicht ganz genau unseren späteren lichtmikroskopischen Untersuchungen (TITLBACH, 1963, 1967).

Es gibt nur zwei elektronenmikroskopische Studien des Inselgewebes bei den Echsen. Eine beschäftigt sich mit den Inseln bei *Eumeces fasciatus* (BURTON und VENSEL, 1966), die zweite bei *Lacerta agilis* und *viridis* (TITLBACH, 1967). Elektronenmikroskopisch weichen die A-Zellen von den B-Zellen durch das Bild der spezifischen Granula ganz grundsätzlich ab. TITLBACH hat noch die D-Zellen gezeigt. Das Granulabild der A-Zellen, ist wie allgemein, fast uniform auch bei beiden Arten der Echsen. Die A-Zellen besitzen fast runde Granula, die die Marksubstanz auch in runden, fast homogenen dunklen Schollen zeigen. Das Bild der b-Granula wechselt ein wenig. Bei *Eumeces fasciatus* ist das Bild der b-Granula oft "porös," die Autoren fanden oft in der Marksubstanz kleine Aufklärungen. Weniger reife Granula weisen oft niedrigere Densität und das Mark ist fast rund; die ausgereiften Granula sind dunkler, das Mark ist höher kondensiert. Im Schnitt zeigt das Mark dieser Granula fast regelmäßige geometrische Bilder. Die Autoren schreiben dem Mark die Form eines Oktaeders zu und auch bei dieser Form fanden sie kleine Aufklärungen der Marksubstanz. Bei *Lacerta viridis* und *agilis* zeigt das Mark der reifen b-Granula oft sternförmige Gebilde, die aus feinen Fasern zusammengesetzt sind. Solche Granula findet man nur nach OsO₄ Fixierung, wenn mehrere Stoffe mit kleinerer Molekül ausgeschwommen sind, während nach Glutaraldehyd-OsO₄ Fixation fast alle b-Granula rund sind und das Mark in runder Form aufweisen (TITLBACH, 1967).

Nach BURTON und VENSEL (1966) sind auch die Mitochondrien in den A- und B-Zellen verschieden. Die Mitochondrien der A-Zellen haben häufig tubuläre oder prismatische Kristalle, die längs orientiert sind. TITLBACH (1967) hat noch die D-Zellen beschrieben. Nach Glutaraldehyd-OsO₄ sind diese Zellen den A-Zellen ähnlich; nur ist das Mark im Bild nicht so dunkel und füllt den Raum des Granulums fast bis zur Hüllmembran aus. Die d-Granula sind auch im Durchmesser ein bisschen größer. Der Unterschied ist nach OsO₄ Fixierung am auffallendsten zu sehen; das Mark ist dann öfters ausgeschwommen, von den Granula bleiben dann nur die Hüllmembranen.

Material und Methode

Untersucht wurden die Langerhanssche Inseln von drei jungen grünen Leguanen. Das Material für Lichtmikroskopie wurde gleich nach Dekapitation des Tieres in Bouin's Flüssigkeit fixiert. Die Paraffinschnitte (4–5 μ) wurden durch folgende Methoden gefärbt: Aldehydfuchsin-Trichrom; Viktoriablau-Säurefuchsin nach Ivič (1959); Toluidinblau (MANOCCHIO, 1964); Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin nach MALLORY mit Voroxydation. Pseudoisocyanin (SCHIEBLER und SCHIESSLER, 1959)—diese Präparaten wurden im normalen sowie auch bei ultraviolettem Licht (STERBA, 1961) studiert; Versilberung nach HELLMAN und HELLERSTRÖM (1960). Manche von diesen Methoden wurden auch auf demselben Präparat nacheinander durchgeführt. Für Elektronenmikroskopie wurden die Bauchspeicheldrüsen in kleine Teile zerschnitten, in 2,5% Glutaraldehyd-2% OsO₄ (Phosphatpuffer 7,4 pH) fixiert und über Alkohol und Propylenoxyd in Epon-Araldit (RODRIGUEZ, 1967) eingebettet. Die Dünnschnitte wurden mit 1% Uranylazetat und mit Bleizitrat (REYNOLDS, 1963) doppelkontrastiert, und am Elektronenmikroskop EM 9A studiert und fotografiert. Die lichtmikroskopische Orientierung wurde an Azurgefärbten (pH 8,5) Semidünnschnitten durchgeführt.

Befunde

Von beiden von uns früher beschriebenen Spezies von *Lacerta* weicht das Bild des Inselgewebes beim grünen Leguan grundsätzlich ab. Gegen regelmäßig kleinen Inseln der Eidechsen, deren größte Anhäufung wir im mittleren Drittel der Bauchspeicheldrüse fanden, gibt es beim Leguan in der Nähe von der Milz eine größere Anhäufung des Inselgewebes; diese macht hier den größten Teil des Pankreas und ist an der Peripherie nur von einem schmalen Saum des exokrinen Gewebes bedeckt. Diese Masse ist von reich anastomosierenden Balken der Inselzellen gebildet. Durch den Gesamtcharakter erinnern diese sehr viel auf die Inseln der Schlangen. Die Inselzellen liegen an das feine Bindegewebe mit dem Pol der Zellen an, wo die Kerne liegen. Mit dem zweiten Pol berühren diese Zellen wieder das feine Bindegewebe, wo aber viele größere Kapillaren sich verbreiten. Von der Peripherie dringt nicht selten zwischen solche Balken eine kleine Menge von exokrinem Gewebe auch mit den Ausführungsgängen ein. Das exokrine Gewebe ist nicht von dem endokrinen Gewebe durch Bindegewebe abgegrenzt. Es dringen oft kleine Ausführungsgänge zwischen die Inselzellen; häufig sind diese aber durch eine feine Bindegewebsschicht abgegrenzt. Als Ausnahme finden wir feine Ausführungsgänge, die zwischen den Basalteilen der endokrinen Zellen verlaufen und nicht durch Bindegewebe abgegrenzt sind.

Ähnlich wie bei Eidechsen so auch beim Leguan können wir oft die exokrinen von den endokrinen Zellen nach dem Bild des Kernes, bzw. des Nukleolus unterscheiden. Die meisten von den exokrinen Zellen besitzen im Kern ein großes Nukleolus, während die Nukleolen der Inselzellen regelmäßig klein sind. Mit den meisten spezifischen Färbemethoden kann man die Inselzellen gut anfärben.

Abb. 1. Teil eines großen Komplexes der Inselzellen im milznahen Abschnitt der Bauchspeicheldrüse bei Grünleguan. Von der rechten Seite dringt ein wenig von exokrinem Gewebe ein. Die B-Zellen sind oft faßförmig und hell. Bouin-Fixation; Azan. $\times 500$

An Hand der Methoden, die die A-Zellen hervorheben, wird der größte Teil der Zellen gefärbt. Oft sind dies höhere zylindrische Zellen, die die fast runden Kerne bei der Basis der Zellen zeigen. Der apikale Pol der Zelle, näher der Kapillare ist öfter verengt. Der ganze Zellleib, auch in der Umgebung des Kernes, bzw. auch unter dem Kern, zeigt gröbere, intensiv gefärbte Granula, die durch Azokarmin, saures Fuchsin oder Ponceau de xylidene karmin bis ziegelrot, durch phosphorwolframsaures Hämatoxylin nach Mallory, dunkel graublau anfärben. Zwischen diese Zellen sind manchmal höhere, desöfteren aber niedrigere faßförmige Zellen eingekeilt, die im supranuklearen Teil Granula zeigen, welche durch Aldehydfuchsin oder Viktoriablau 4B blauviolett oder blau, durch Pseudoisocyanin metachromatisch karminrot gefärbt sind. Nach den färberischen Eigenschaften entsprechen also diese Elemente den B-Zellen. Die Verteilung dieser Zellart ist unregelmäßig; einmal liegen im Schnitte mehrere B-Zellen nebeneinander, anderswo sind sie mehr zerstreut und seltener.

Der dritte Zelltyp ist in den üblich gefärbten Präparaten schwer zu finden. Nur an den durch Aldehydfuchsin-Trichrom gefärbten Schnitten kann man solche Zellen seltener beobachten; sie sind schmal und schmutzig-grün gefärbt. Häufiger

finden wir in der Umgebung der Sinusoide einen mondartigen, grüngefärbten Teil der Zelle. Nach der Azanfärbung konnten wir diese Zellen nicht finden. Benützten

Abb. 2. Alle drei Zelltypen der Langerhansschen Inseln sind gut zu erkennen nach dem Charakter der spezifischen Granula. *A* A-Zellen, *B* B-Zellen, *D* D-Zellen. In der Umgebung der Kapillare im feinen Bindegewebe einige Nervenfasern. Glutaraldehyd- OsO_4 ; Epon-Araldit; Uranylazetat-Pb-zitrat $\times 5,200$

wir aber die metachromatische Färbung nach MANOCCHIO, treten purpurgefärbte Zellen, oder Teile dieser Zellen, sehr auffallend und in größerer Menge hervor. Die meisten der anderen Inselzellen sind entweder blaßblau gefärbt, oder öfters sind gerade die B-Zellen fast farblos. Nach der Entfärbung und Versilberung (nach HELLMAN und HELLERSTRÖM) sind den früher metachromatischgefärbten entsprechende Zellen versilbert. Häufiger ist aber der ganze schlanke Zellleib zu sehen und man findet noch mehrere versilberte Zellen, als nach der metachromatischen Färbung. Es ist uns öfter gelungen, mehr klare und reine Bilder beim grünem Leguan durch Versilberung zu erreichen, wenn die Schnitte zuerst durch MANOCCHIO-Methode gefärbt worden wurden.

Ähnlich wie bei der Zaun- und Smaragdeidechse auch beim grünen Leguan konnten wir leicht elektronenmikroskopisch drei Zelltypen unterscheiden; das elektronenmikroskopische Bild der Granula war verschiedlich von dem der Eidechsen (Abb. 2).

Abb. 3. Der verschiedene Charakter, vorwiegend der a- und d-Granula tritt ganz deutlich hervor. Die größeren und dunkleren a-Granula liegen rechts, der größte Teil des Bildes enthält d-Granula; links oben einige b-Granula. Technik wie Abb. 2. $\times 19,000$

Manchesmal bezeigt das Übersichtsbild überwiegend solche Zellen, die ungefähr runde, manchmal auch ovoide, verhältnismäßig grobe und dunkle Granula besitzen. Die Größe der Granula schwankt auch in derselben Zelle (nach unseren Messungen um 390 ± 90 nm). Die Marksubstanz der Granula ist homogen, im Bilde dunkel und fast regelmäßig füllt sie den Innenraum des Granulums vollkommen aus (Abb. 3); die helle ringförmige Spalte die oft die Marksubstanz von der Hüllmembran trennt ist sehr eng und wir fanden diese Spalte nicht allzu häufig. Von diesem überherrschenden Bild der Granula weichen einige ab, hauptsächlich durch ihre Form. Manchmal sind solche Granula kolbenartig oder haben auch eine fast

unregelmäßige Form. Seltener sieht man den Unterschied in der Marksubstanz; diese ist heller und nicht homogen sondern flockenartig und zwischen dem Mark und der Hüllmembran beobachten wir eine breitere Spalte, die entweder "leer" ist, oder durch eine flockige Substanz ausgefüllt ist. Die a-Granula füllen fast den ganzen Zelleib aus. Im Zytoplasma zwischen den Granula liegen zerstreute Mitochondrien, mehrere kleine ergastoplasmatische Beutelchen, freie Ribosomen oder Polysomen und Vesikeln des glatten endoplasmatischen Retikulums. Der Golgi-Apparat ist meistens weniger ausgeprägt, am häufigsten finden wir diesen an solchen Stellen, wo die a-Granula weniger dicht liegen, des öfteren seitlich vom Kern oder auch in dem basalen Teil der Zelle.

Der zweite, auch verhältnismäßig häufige Zelltyp sind die B-Zellen. Manchmal sind diese Zellen gerade so hoch wie die meisten A-Zellen in der Nachbarschaft, anderswo sind sie aber niedriger. Sehr charakteristisch sind die b-Granula, die sich fast ausschließlich im apikalen Teil der Zelle befinden. Auch die Größe der b-Granula schwankt (Durchmesser ungefähr 350 ± 80 nm). Grundsätzlich können wir das Bild der b-Granula in zwei Gruppen teilen: 1) Die b-Granula der mittleren Größe, die nicht allzu häufig sind, deren Mark fast gleichmäßig feingekörnt ist; die Marksubstanz füllt fast den ganzen Raum des Granulum aus und zwischen dieser und der Hüllmembran des Granulum ist ein schmaler, ringförmiger, heller Raum zu sehen. 2) Solche b-Granula, deren Größe schwankt und in denen die Marksubstanz oft eine höhere Stufe der Kondensation aufweist. Neben diesem, wahrscheinlich polymerisierten Teil, ist öfter noch ein Teil des dünnen flockenartigen Markes vorhanden. Das polymerisierte Mark zeigt im allgemeinen eine große Polymorphie, doch kommen auffallend oft solche Gebilde vor, die auf einige geometrische Bilder erinnern: Rhombus, Rhombus ohne zwei entgegengesetzten,—oder allen vier Ecken, ein Trapez und endlich ein Trapez ohne Spitzen bei der Basis (Abb. 4.). Meistens ist die polymerisierte Marksubstanz der b-Granula homogen, manchmal finden wir hier aber auch kleine, selten größere, hellere Aufklärungen. Im apikalen Teil der B-Zellen, finden wir neben den spezifischen Granula hauptsächlich freie Ribosomen, eine kleinere Menge von ergastoplasmatischen Beutelchen und rare Mitochondrien. Die letzteren sind reichlicher, sowie auch Durchschnitte vom Golgi-Apparat neben dem Kern oder im basalen Teil der Zelle zu finden, wo die b-Granula nur spärlicher vorkommen.

Der dritte Zelltyp, die D-Zellen, die am spärlichsten sind, unterscheiden sich von anderen Zelltypen durch die Form, das Aussehen und teilweise auch durch die Dislokation der d-Granula. Die Größe dieser Granula schwankt (längere Achse des Granulum 270 ± 75 nm). Diese Granula sind meistens im ganzen Zytoplasma der D-Zelle zu sehen und sind sehr häufig. Die Form der Granula ist ovoid, elliptisch, manchmal auch kolbenartig oder auch leicht nierenförmig. Das Mark ist nicht homogen, es bietet ein fein flockiges Bild bei höherer Vergrößerung. Von den a-Granula unterscheiden sich also die d-Granula durch andere Form und die Marksubstanz sieht heller aus (Abb. 3). Allgemein liegt bei anderen Tieren die Marksubstanz fast bis zur Hüllmembran beim Granulum an. Manchmal konnten wir feststellen, daß in der Nähe des Blutgefäßes die d-Granula ein bischen größer sind als in den mehr entfernten Teilen der Zelle. Im Zelleib zwischen den Granula finden wir vereinzelt Mitochondrien, seltener auch kleinere ergastoplasmatische

Abb. 4. Teil einer B-Zelle mit zahlreichen Durchschnitten der b-Granula, deren Marksubstanz ganz charakteristische Bilder zeigt. *K* Kern, *GA* Golgi-Apparat. Technik wie Abb. 2. $\times 20,000$

Abb. 5. Durchschnitt eines kleineren Ausführungsganges, der sich an der Grenze Inselgewebe-exokrines Parenchym befindet. Rechts eine A-Zelle, unten eine Zymogenzelle. Die epithelialen Zellen des Ausführungsganges besitzen Glykogen und sind durch zahlreiche Desmosomen zusammengebunden. Technik wie Abb. 2. $\times 17,500$

Abb. 6. Eine verhältnismäßig typische acino-insuläre Zelle bei Grünleguan. Im Zytoplasma einer Zelle findet man neben typischen Zymogengranula auch b-Granula (→), a-Granula (⇒) und wahrscheinlich auch d-Granula (⇨). Im Zytoplasma solcher Zellen findet man auch auffallend oft verschiedene Stadien der fokalen cytoplasmatischen Degradation (Cy). K Kern, GA Golgi Apparat. Technik wie Abb. 2. $\times 8,400$

Beutelchen, wogegen Polysomen und freie Ribosomen sehr reich vorhanden sind.

Verhältnismäßig selten fanden wir bei der Grenze der Inseln an das exokrine Gewebe feine Ausführungsgänge (Abb. 5). Manche von diesen sind vom Bindegewebe umhüllt, andere liegen aber unmittelbar an die Inselzellen an. Die Zellen des Ausführungsganges sind in der Regel nach Glutaraldehydfixation leicht durch größere Menge vom Glykogen zu erkennen. Die Gangzellen senden ins Lumen zahlreiche dünne Vortsätze, manchmal auch Kinocilien. In der Nähe vom Lumen sind die Zellen durch Desmosomen zusammengebunden. Ausführungsgänge im Inneren der Inselmasse sind außerordentlich selten und befinden sich nur in den

Abb. 7. Ausschnitt aus der Abb. 6. Alle vier Granulatypen nebeneinander bei mittlerer Vergrößerung. Technik wie Abb. 2. $\times 18,400$

Bindegewebssepten.

Auch beim grünen Leguan findet man im Verband der typischen Inselzellen einige, die wie "acino-insuläre Zellen" oder "Mischzellen" bezeichnet werden können. Höchstwahrscheinlich in einer und derselben Zelle fanden wir nebeneinander manchmal

Abb. 8. Schematische Darstellung der kristallinen Form des b-Granulamarkes, die durch Verbindung eines Oktaeders mit einem Kubus entsteht und deren verschiedene Durchschnitte den meisten elektronenmikroskopischen Abbildungen der Marksubstanz der b-Granula entspricht.

Zymogen- und b-Granula, anderswo auch noch typische a- und vielleicht auch d-Granula, also neben den für exokrine typischen Granula noch Formen, die allen drei Granulatypen der Inselzellen entsprechen (Abb.6).

In den breiten Septen zwischen den Balken der Inselzellen im lockeren und auf Zellen verhältnismäßig armen Bindegewebe findet man oft breitere Kapillaren. Ähnlich wie bei den Eidechsen ist die Schicht des Bindegewebes regelmäßig breit und die endothelialen Zellen sind meistens sehr dünn. Häufig in der Umgebung der Kapillaren sind im Schnitte zahlreiche Nervenfaserbündel zu beobachten.

Diskussion

Der Bau der Langerhansschen Inseln bei den Echsen wurde lichtmikroskopisch in den letzten Jahren an Hand der spezifischen Färbungen hauptsächlich von MILLER (1962) studiert und zwar bei 15 verschiedenen Arten. Zwischen diesen findet man auch den grünen Leguan. Und schon in den Beschreibungen von MILLER im Vergleich mit unserem Material finden wir einige Unterschiede.

Wenn wir keine Rücksicht auf den unklaren Ausdruck "residuale Lumina" nehmen auf welche MILLER nur bei den Echsen und Krokodilen aufmerksam macht, und wir nehmen an, daß es sich um die Äste der Ausführungsgänge handelt, was wahrscheinlich bei den Krokodilen der Fall ist, kommen wir zu einem weiteren Mißverständnis. Bei allen Kriechtieren sind die Verhältnisse der Ausführungsgänge zu den Langerhansschen Inseln sehr auffallend. Bei den Schildkröten und bei den Schlangen sind die Bilder, der durch das Inselgewebe durchdringenden Ausführungsgänge schon durch mehrere Mitteilungen bekannt. Gerade aber bei den Echsen sind die Ausführungsgänge am wenigsten ausgeprägt. Trotzdem erwähnt nicht MILLER solche "residuale Lumina" bei den Schlangen und Schildkröten. Vielleicht können wir auch annehmen, daß MILLER mit diesem Ausdruck solche Hohlräume bezeichnen wollte, die auch wir beim Leguan sahen; wir meinen aber, daß es artefizielle Dehiszenzen zwischen den endokrinen Zellen sind die hauptsächlich durch ungenügende Fixation bei größeren Gewebsstückchen entstanden sind und die wir niemals im Material für das elektronenmikroskopische Studium fanden.

Auch im weiteren Vergleich finden wir eine kleinere Abweichung von MILLER's Befunden. In der ersten Reihe sind das die argyrophile Zellen, die wir in grösseren Mengen fanden als er. Auch beim Grünleguan konnten wir, nach unserer Meinung, dieselben Zellen mit der Versilberung (nach HELLMAN und HELLERSTRÖM, 1960) sowie mit der Färbung auf Metachromasie (nach MANOCCHIO, 1964) hervorheben, was im allgemeinen jetzt auch HELLERSTRÖM und HELLMAN's (1969) Ansichten entspricht.

Das elektronenmikroskopische Bild können wir mit zwei Mitteilungen über die Echseninseln vergleichen. Das Bild der Langerhansschen Inseln der Eidechsen (TITLBACH, 1967) unterscheidet sich mehr von den Befunden beim grünen Leguan; die b-Granula zeigen ein anderes Aussehen. Das Mark der a-Granula der Eidechsen nach der Glutaraldehyd-OsO₄ Fixation zeigt ein Bild einer dunkleren Scholle, während nach der einfachen Fixierung durch OsO₄ die meisten Granula nur ein sternförmiges Büschel von feinen Fasern enthält. Mit dem Bild der b-Granula beim Leguan ist das Aussehen der Granula der B-Zellen bei *Eumeces fasciatus* (BURTON und VENSEL, 1966) viel näher, fast übereinstimmend. Bei verschiedenen Vertretern

der Wirbeltierreihe ist eine typische kristallische Struktur des Markes der b-Granula beschrieben worden; das Mark bietet in solchen Fällen im Schnitt einen Bau von regelmäßig abwechselnden dunkleren und helleren Streifen. Bei verschiedenen Arten wechselt die Größe dieser Periodizität ab, und es scheint also, daß der Bau von diesen Kristallen oft spezifisch nach der Art des Tieres ist. Vielleicht darf man auch die b-Granula beim Leguan in dieselbe Gruppe einreihen. Wir konnten zwar keine periodische Substruktur des Granulamarkes finden, aber das Bild in den Schnitten ist auffallend typisch. In Anbetracht an die immer vorkommende charakteristische Durchschnitte, vermuten wir, ähnlich wie BURTON und VENSEL (1966), es handelt sich um Schnitte durch ein regelmäßiges Gebilde. BURTON und VENSEL meinen, es sei ein Oktaeder. Das schematische Bild zeigt einen geometrischen Körper, der durch Verbindung von einem Oktaeder und einem Kubus entstanden ist und der am besten den verschiedenen Durchschnitten des b-Granulamarkes im elektronenmikroskopischen Bild entspricht. Das auch von BURTON und VENSEL gefundene "poröse" Mark der b-Granula, den wir auch nicht selten sahen, halten wir für einen Artefakt.

Während das Bild der a-Granula bei verschiedenen Echsen (sowie bei anderen beschriebenen Wirbeltieren) im Grunde gleich ist, in der Form des Markes der b-Granula findet man schon Abweichungen (BURTON und VENSEL, 1966; TITLBACH, 1967). Neben diesen Zelltypen sind in den Inseln auch bei den Echsen D-Zellen elektronenmikroskopisch beschrieben worden, deren Granula nach verschiedenen Fixationsflüssigkeiten abweichende Bilder zeigen (TITLBACH, 1967).

Beim grünen Leguan konnten wir nicht die Unterschiede zwischen den Mitochondrien der A- und B-Zellen finden, wie es beim *Eumeces fasciatus* von BURTON und VENSEL beschrieben ist. Diese Autoren fanden nur A- und B-Zellen in den Inseln, wogegen konnten wir aber neben diesen zwei Zelltypen noch solche Zellen unterscheiden, die nach dem Aussehen der Granula, und im Vergleich zu Inselzelltypen anderer Tiere, wir als D-Zellen bezeichnen würden. Wegen Materialmangel konnten wir nicht die Bilder nach Glutaraldehyd-OsO₄ und nur OsO₄ Fixation vergleichen, denn nach OsO₄ wird der unterschiedliche Charakter des d-Granulamarkes mehr auffallend. Der größte Unterschied gegen den a-Granula liegt in der Form, Größe und Dichte des Markes und teilweise auch die Dislokation der Granula in der A- und D-Zellen ist anders. Auch für die Annahme, daß die D-Zellen ein Funktionszustand (Erschöpfung) der B-Zellen vorstellen (FALLER, 1969), findet man beim Leguan keinen Anhaltspunkt.

Zu der in letzter Zeit oft diskutierten Frage von der Existenz und Bedeutung der sogenannten "acino-insulären Übergangszellen" möchten wir vermerken: Zum erstenmal sind solche Zellen bei der Ratte von GUSEK und KRACHT (1959) beschrieben worden. Sehr häufig findet man solche Zellen in den Inseln der Lurchen (HERMAN, SATO und FRITZGERALD, 1964; KOBAYASHI, 1966; LANGE, 1968). Dieser Befund wird von manchen Autoren als ein morphologischer Ausdruck des Überganges der Zymogen- in Inselzellen im Sinne der Balancement-Theorie erklärt (HERMAN, SATO und FRITZGERALD, 1964; FALLER, 1969); andere Autoren (KOBAYASHI, 1966) behaupten, diese Zellen seien durch einen Zusammenfluß von benachbarten Zellen entstanden, oder sie seien durch Veränderung des typischen Zellkodes bedingt (LEDUC und JONES, 1968). FALLER (1969) macht noch eine Unterteilung in "acino-insuläre

Übergangszellen" und "Mischzellen." Die ersten sind charakteristisch durch morphologische Bestandteile der Zymogen- sowie auch Inselzellen, während die zweite Form nur Granula verschiedenen Inselzelltypen zeigen. In unserem Material von grünem Leguan können wir manchmal auch solche Zellen zeigen, in denen neben den Zymogen- mindestens auch A- und B-Inselzellgranula zu finden sind, manchmal hat man den Eindruck, es handle sich um A-, B- und D-Zellgranula. Die Bedeutung der "acino-insulären Übergangszellen" kann aber in unserem Material nicht gelöst werden.

Zusammenfassung

1. Die Langerhansschen Inseln bei grünem Leguan bilden eine große Masse im milznahen Teil der Bauchspeicheldrüse, die nur von einem dünnen Mantel des Zymogengewebes überzogen ist. Die Inselzellen sind in reich anastomosierende Balken zusammengesetzt.

2. Wie bei anderen Kriechtieren sind die Inseln ebenso licht- wie auch elektronenmikroskopisch aus drei Zelltypen gebildet; lichtmikroskopisch kann man die einzelnen Zelltypen leicht durch spezifische Färbungsmethoden hervorheben. Die B-Zellen sind nicht gleichmäßig im Inselgewebe verteilt; manchmal überwiegen hauptsächlich die A-Zellen.

3. Elektronenmikroskopisch unterscheiden sich die einzelnen Zelltypen leicht durch die Form und Größe der spezifischen Granula. Die a-Granula (390 ± 90 nm) sind meistens kugelig und dunkel. Das Mark der b-Granula (Gesamtgröße der Granula etwa 350 ± 80 nm) zeigt im Schnitt verschiedene geometrische Gebilde. Spärlicher kommen die D-Zellen vor, die kleinere, oft leicht unregelmäßige und hellere Granula (270 ± 75 nm) zeigen.

4. Hauptsächlich an der Peripherie des Inselgewebes trifft man Zellen, die Granula verschiedener Form zeigen und teilweise auch das Zytoplasma in verschiedenen Zellteilen anderes Aussehen hat. In einer und derselben Zelle findet man neben typischen Zymogengranula auch charakteristische Gebilde, die den A- und B-Zellen manchmal auch D-Zellgranula gehören sollen. An der Peripherie des Inselgewebes findet man auch zarte Ausführungsgänge. Ihre Zellen besitzen keine Granula, sind aber durch charakteristische Mitochondrien mit breiten und dunklen Cristen, sowie auch durch höheren Glykogegehalt charakterisiert.

Summary

1. Langerhans islets in the green iguana form a large mass in the part of the pancreas near the spleen; this mass is covered only with a thin layer of zymogen tissue. Islet cells form abundantly anastomosing cords.

2. As in other reptiles, three types of cells are found in the islets both by light and electron microscopy; each type can be easily demonstrated under the light microscope, using specific staining methods. B-cells are not evenly distributed in the islet tissue; sometimes other cells, mostly A-cells, predominate.

3. With the electron microscope individual types of cells differ in the shape and size of specific granules; a-granules (390 ± 90 nm) are mostly spherical and dark. The core of b-granules in sections (total size of granules being approximately 350 ± 80 nm) takes the shape of various geometrical figures. D-cells, whose granules

(270 ± 75 nm) are smaller, lighter and slightly irregular, are found more sporadically.

4. Cells with granules of different shapes and with different appearances of cytoplasm in various parts of the cell occur especially at the islet periphery. Besides typical zymogen granules characteristic formations, which should correspond to A- and B-cells, possibly to D-cell granules, may be found in the same cell. Fine ducts are found at the islet periphery as well. Their cells do not contain any granules; they are, however, characterized by mitochondria with broad and dark cristae as well as a larger amount of glycogen.

Literatur

- Burton, P.-R. and W. H. Vensel:** Ultrastructural studies of normal and alloxan-treated islet cells of the pancreas of the lizard, *Eumeces fasciatus*. J. Morphol. 118: 91-118 (1966).
- Diamare, V.:** Studi comparativi sulle isole di Langerhans del pancreas. Int. Monatschr. Anat. Physiol. 16: 155-209 (1899).
- Faller, A.:** Elektronenmikroskopische Differenzierung verschiedener Inselzelltypen im Pankreas normaler Albinoratten. Z. Zellforsch. 97: 226-248 (1969).
- Giannelli, L. ed E. Giacomini:** Ricerche istologiche sul tubo digerente dei Rettili. 3a Nota. Proc. verbali Accad. Fisiocritici (Siena), 1896. (p. 3-11).
- Gusek, W. und J. Kracht:** Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Inselwachstum und acino-insuläre Transformation. Frankf. Z. Pathol. 70: 98-106 (1959).
- Hellman, B. and C. Hellerström:** The islets of Langerhans in ducks and chickens with special reference to the argyrophil reaction. Z. Zellforsch. 52: 278-290 (1960).
- : Histology and histophysiology of the islets of Langerhans in man. In: (ed by) E. F. Pfeiffer: Diabetes mellitus. München, J. F. Lehmanns; 1969. (Bd. I. p. 89-118).
- Herman, L., T. Sato, and P. J. Fitzgerald:** The pancreas. In: (ed by) S. M. Kurtz: New York Academic Press, 1964. (p. 59-95).
- Ivić, M.:** Neue selektive Färbungsmethode der A- und B-Zellen der Langerhansschen Inseln. Anat. Anz. 107: 347-350 (1959).
- Kobayashi, K.:** Electron microscope studies of the Langerhans islets in the toad pancreas. Arch. histol. jap. 26: 439-482 (1966).
- Lange, R.:** Über die Variabilität und experimentelle Beeinflussung der Morphologie der Zellen im Inselapparat des Frosches *Rana ridibunda*. Z. Zellforsch. 88: 353-364 (1968).
- Leduc, E. E. and E. E. Jones:** Acinar-islet cell transformation in mouse pancreas. J. Ultrastr. Res. 24: 165-169 (1968).
- Manocchio, I.:** Metacromasia e basofilia delle cellule insulari alfa nel pancreas di mammiferi dopo metilazione e demetilazione. Arch. vet. ital. 15: 3-7 (1964).
- Miller, M. R.:** Observations on the comparative histology of the reptilian pancreatic islet. Gen. comp. Endocrinol. 2: 407-414 (1962).
- Miller, M. R. and D. H. Wurster:** Studies on the blood glucose and pancreatic islets of lizards. Endocrinology 58: 114-120 (1956).
- : Further studies on the blood glucose and insulin on the islets of lizard. Endocrinology 63: 191-200 (1958).
- Reynolds, E. S.:** The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17: 208-212 (1963).
- Rodriguez, T.G.:** Ultrastructural changes in the mouse exocrine pancreas induced by prolonged treatment with Actionmycin D. J. Ultrastr. Res. 19: 116-129 (1967).

- Schiebler, T. H. und S. Schiessler:** Über den Nachweis von Insulin mit den metachromatisch reagierenden Pseudoisocyaninen. *Histochemie* 1: 445-465 (1959).
- Sterba, G.:** Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Neurosekretion beim Bachneunauge (*Lampetra planeri* Bloch). *Z. Zellforsch.* 55: 736-789 (1961).
- Titlbach, M:** Příspěvek k srovnávací morfologii Langerhansových ostrůvků u Reptilií. *Česk. Morfol.* 11: 109-116 (1963).
- : Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Langerhansschen Inseln von Eidechsen (*Lacerta agilis* L., *Lacerta viridis* Laurenti). *Z. Zellforsch.* 83: 427-440 (1967).

Dr. Milan TITLBACH
Laboratorium für Ultrastrukturforschung
der Zellen und Gewebe, ČSAV
Prag 2, Albertov 4
Tschechoslowakei