

elektronenmikroskopischen und funktionellen Auswirkungen von CCl_4 und CHCl_3 auf die Leber gleichen sich stark, so dass auf einen gleichartigen Schädigungsmechanismus geschlossen werden darf. Die zentroacinare Hemmung der Proteinsynthese führt auch bei Chloroform über den eingangs erwähnten pathogenetischen Zusammenhang zu einer zentrolobulären Leberzellverfettung und einem Abfall des Plasmagehaltes an leberspezifischen Gerinnungsproteinen¹⁵.

Halothan zeigt demgegenüber ein wesentlich anderes Verhalten. Eine Biotransformation ist ebenfalls bei Mensch und Tier nachgewiesen worden. Sie führt jedoch nach heutigen Kenntnissen nicht zu toxischen Metaboliten¹⁶. Die aus Halothan in der Leberzelle in kleinen Mengen gebildete Trifluoressigsäure ist an der Ratte 400mal weniger toxisch als Monofluoressigsäure. Die beim Kaninchen während Halothannarkose stündlich anwachsende Halothanabbaurate ist ebenso wie die Verkürzung der Hexobarbital-Schlafzeit nach Halothannarkose an Ratten Folge einer Induktion mikrosomaler oxydierender Enzyme, deren morphologisches Äquivalent sich in einer Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulums vorfindet. Das granuläre endoplasmatische Reticulum bleibt auch während vielstündiger Halothannarkose gut erhalten. Die komplexen, hochdifferenzierten Vorgänge der Proteinbiosynthese laufen ungestört weiter. Im Gegensatz zu Chloroform bleibt auch der Plasmagehalt leberspezifischer Gerinnungsproteine und die Serumaktivität der Transaminasen unverändert.

Für die geringere, meist periportale Fettablagerung in Leberzellen nach Halothannarkose trifft die für die vorwiegend zentrolobuläre Leberzellverfettung nach Chloroformeinwirkung zutreffende pathogenetische Beziehung nicht zu. Vielmehr ist daran zu denken, dass eine unterbrochene Nahrungsaufnahme¹⁷, wie auch eine Stress-Situation¹⁸ oder Adrenalingaben¹⁹ zu einer Mobilisierung freier Fettsäuren aus den Fettdepots und Ablagerungen von Triglyceriden in Leberzellen führt.

Derartige Stoffwechselbedingungen liegen in der Regel während und nach einer Allgemeinnarkose bei Versuchstieren vor. Auch während Halothannarkose steigen die freien Fettsäuren im Serum der Ratte an. Die Fettablagerungen in den Leberzellen entsprechen in Menge und Lokalisation der durch Hunger oder Adrenalin auslösbaren Leberzellverfettungen. Demzufolge können diese Fettablagerungen nach Halothannarkose nicht als eine dem Halothan eigene toxische Wirkung auf die Leberzelle aufgefasst werden. Sie sind in erster Linie als Ausdruck der Stoffwechselbedingungen während der Narkose zu betrachten²⁰.

Summary. Examinations by electron microscopic and autoradiographic techniques of whether chloroform and halothane alter protein synthesis in rat liver, demonstrate, that chloroform causes an early destruction of the granular endoplasmatic reticulum accompanied by a marked decrease of the protein synthesis in the centre of the acini. After anaesthesia with halothane, the granular endoplasmatic reticulum and the protein synthesis proved to remain unaffected.

K. L. SCHOLLER

Institut für Anaesthesiologie der Universität Freiburg i. Br. und Elektronenmikroskopische Abteilung des Pathologischen Institutes der Universität Frankfurt/Main (Deutschland), 26. Januar 1967.

¹⁵ H. P. SMITH, E. D. WARNER und K. M. BRINKHOUSE, J. exp. Med. 66, 801 (1937).

¹⁶ A. STIER, Biochem. Pharmac. 13, 1544 (1964).

¹⁷ J. SCHLICHT, Virchows Arch. path. Anat. Physiol. 326, 568 (1955).

¹⁸ B. B. BRODIE and R. P. MAICKEL, Ann. N.Y. Acad. Sci. 104, 1049 (1963).

¹⁹ L. A. CARLSON, Acta chir. scand. suppl. 325, 5 (1964).

²⁰ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Histochemical Comparison of Mast Cell and Globule Leucocyte Granules in the Rat

A considerable literature exists concerning the so-called 'atypical mast cells' of the small intestine mucosa of the rat. These cells have been noted to differ from normal mast cells of other areas in respect of morphology¹, fixation properties², staining reactions and histochemistry³, as well as in their response to compound 48/80⁴. Whether normal mast cells are also found in the small intestine mucosa of the rat is less clear. However, MOTA et al.⁵ indicate that they are practically absent from this area. While the precise relationship of 'atypical mast cells' to normal mast cells is uncertain, it appears likely that 'atypical mast cells' and globule leucocytes⁶ (Figure 1) are identical cell types. WHUR⁷ investigated this question by attempting to locate normal mast cells, 'atypical mast cells' and globule leucocytes in the small intestines of rats. Animals infected with *Nippostrongylus brasiliensis* were included in these observations, since it has been reported that this nematode elicits both mast cell⁸ and globule leucocyte^{9,10} responses. Globule leucocytes were located but normal mast cells and 'atypical mast cells' were entirely absent. The staining of globule leucocytes and their

failure to degranulate during anaphylaxis, however, resembled observations on 'atypical mast cells'^{3,4}. On this basis it seems possible that the globule leucocytes and 'atypical mast cells' of the small intestine mucosa of the rat are one and the same cell. The designation of such cells as 'atypical mast cells' implies a certain basic similarity to the normal mast cell, and it is suggested that the globule leucocyte might be legitimately referred to as an atypical mast cell if the presence of heparin, 5-hydroxytryptamine (5-HT) or histamine could be demonstrated within its granules. The present communication reports the results of an investigation designed for this purpose.

¹ T. E. HUNT and E. A. HUNT, Anat. Rec. 124, 309 (1956).

² L. ENERBÄCK, Acta. path. microbiol. scand. 66, 289 (1966).

³ L. ENERBÄCK, Acta. path. microbiol. scand. 66, 303 (1966).

⁴ L. ENERBÄCK, Acta. path. microbiol. scand. 66, 313 (1966).

⁵ I. MOTA, A. G. FERRI and S. YONEDA, Q. Jl microsc. Sci. 97, 251 (1956).

⁶ P. WHUR, J. comp. Path. Ther. 76, 57 (1966).

⁷ P. WHUR, Int. Archs Allergy appl. Immun. 30, 351 (1966).

⁸ P. D. WELLS, Expl Parasit. 12, 82 (1962).

⁹ P. WHUR, J. comp. Path. Ther. 77, in press (1967).

Methods. Material was obtained from adult albino Wistar rats infected with 2 doses of 3000 larvae of *N. brasiliensis* given at an interval of 20 days. The rats were killed 10 days after the second infection at a time when globule leucocytes are present in very high concentrations in the jejunal mucosa⁹. A block of jejunum was taken for the examination of globule leucocytes, and a block of s.c. connective tissue from the back region for normal mast cells. Both tissues were subjected to identical procedures. For the detection of heparin, tissue was fixed in 4% basic lead acetate for 24 h, followed by 10% neutral formalin for a further 24 h, embedded in paraffin and cut at 5 μ . Sections were stained with 0.05% toluidine blue at pH 4.2 for 10 min¹⁰, dehydrated in acetone, and cleared in xylol. For the detection of 5-HT frozen sections were cut at 5 μ on a cryostat and fixed for 10 min in acid formalin at pH 5.5. They were then examined under UV-light¹¹ using a Wild fluorescence microscope fitted with an Osram 200 W mercury vapour lamp and dark-field illumination. Secondly, tissues were fixed in Baker's calcium formol at pH 6. Frozen sections were cut at 10 μ , stained with Schmorl's ferricyanide solution and mounted in glycerine¹². For the detection of histamine, tissues were fixed in Reinecke salt solution¹³ for 20 h. Frozen sections were cut at 10 μ . Unstained sections were mounted in glycerine and examined under dark-field illumination, or after diazo-coupling¹³.

Results. Intense metachromasia was given by mast cell granules after staining with toluidine blue, but globule leucocyte granules failed to react. While spacings of greater than 5 Å between available anionic groups would also result in orthochromatic staining it seems likely that the failure of globule leucocyte granules to stain metachromatically indicates the absence of heparin from these cells. Mast cell granules in control sections viewed unstained in UV-light with the Wild fluorescence microscope exhibited a brilliant gold-yellow fluorescence against a bluish background (Figure 2). Globule leucocytes in either type of section failed to fluoresce. Since gold-yellow fluorescence of mast cells after cyclization of

the amino-ethyl side chain by formaldehyde is indicative of 5-HT it is concluded that mast cell granules contained 5-HT and globule leucocyte granules did not. After treatment with Schmorl's ferricyanide solution the granules of mast cells were stained a greenish-blue shade; globule

¹⁰ G. GOMORI, *Microscopic Histochemistry* (University of Chicago Press 1952).

¹¹ W. G. RICE and J. MITCHENER, *Nature, Lond.* 189, 767 (1961).

¹² R. E. COUPLAND and J. F. RILEY, *Nature, Lond.* 187, 1128 (1960).

¹³ A. SCHAUER and E. WERLE, *Z. ges. exp. Med.* 131, 100 (1959).



Fig. 2. Gold-yellow fluorescence of mast cell under UV-light. $\times 1400$.

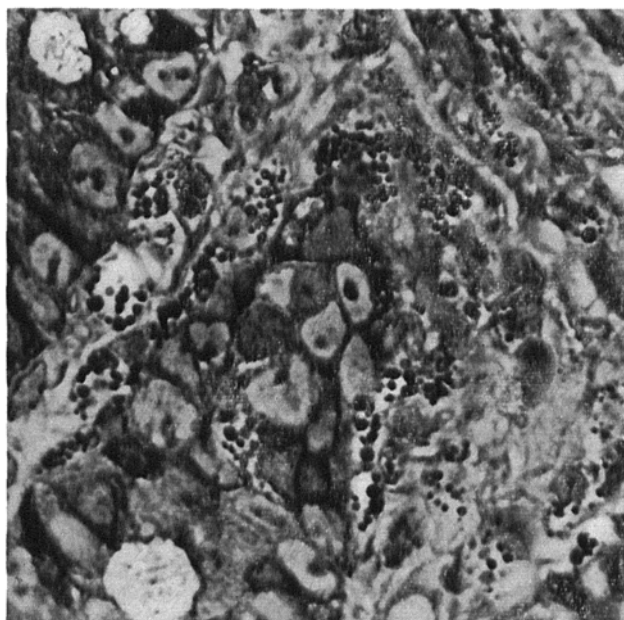


Fig. 1. Globule leucocytes in the mucosa of rat jejunum. Azure eosin pH 3.8 $\times 1400$.

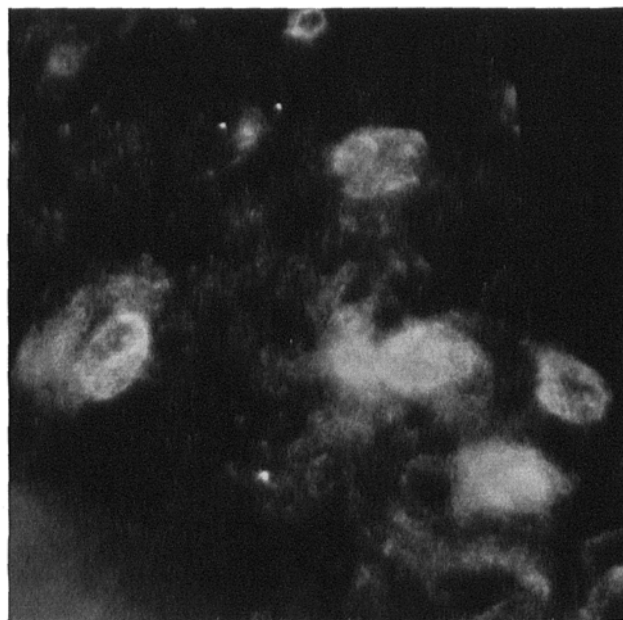


Fig. 3. Mast cells under dark-field illumination after fixation in Reinecke salt solution. $\times 1400$.

leucocyte granules failed to give a positive reaction. This reaction indicates the presence of reducing substances, and the results of these 2 tests indicate the presence of 5-HT in the granules of normal mast cells and its absence from globule leucocyte granules. Examination of mast cells and globule leucocytes after Reinecke salt fixation showed that while mast cell granules shone brilliantly under dark-field illumination (Figure 3), globule leucocytes were not visible. This suggests that Reinecke salt had precipitated the histamine in the mast cells¹³ and that this substance was absent from globule leucocytes. After diazo-coupling, no colour reaction was observed in either cell; the significance of this result is not known.

Discussion. On the basis of the results reported above it is concluded that the granules of globule leucocytes from the small intestine of rats infected with *N. brasiliensis* (Figure 1) do not contain heparin, 5-HT or histamine. These findings indicate that mast cells and globule leucocytes are distinct and unrelated types of cell, and it is suggested that the use of the term 'atypical mast cell' is at present unjustified as a description of globule leucocytes. These observations confirm differences between mast cells and globule leucocytes in respect of distribution, ultrastructure, staining reactions and behaviour during anaphylaxis^{7,14}. The demonstration of globulin in the granules of sheep globule leucocytes¹⁵, and

the relation between globule leucocytes and the immune response to *N. brasiliensis*^{7,9} indicate the possibility that globule leucocytes are involved in the manufacture or transport of antibodies¹⁶.

Zusammenfassung. Es werden die Granulationen von Leukozyten, welche im Dünndarm der Ratte infolge einer Helmintiasis auftraten, mit den Granulationen der Mastzellen im s.c. Gewebe verglichen. Die Granulationen in den Mastzellen verhalten sich gegenüber Heparin und Histamin positiv, während die Leukozyten eine negative Reaktion ergeben. Dies weist darauf hin, dass die beiden Zellen nicht identisch sind und wohl aus verschiedener Matrix stammen.

P. WHUR¹⁷ and MARY GRACIE

Department of Veterinary Histology and Embryology,
University of Glasgow (Scotland), 10th March 1967.

¹⁴ J. F. KENT, Anat. Rec. 156, 439 (1966).

¹⁵ C. DOBSON, Nature, Lond. 211, 875 (1966).

¹⁶ Partly financed by A.R.C. Grant No. AG 17/49.

¹⁷ Present address: Department of Anatomy, McGill University, Montreal, Canada.

Licht- und elektronenmikroskopische Befunde an den Geschmacksknospen der Axolotlzunge

Die vergleichende Morphologie ist durch die Entwicklung der Elektronenmikroskopie und die Ausweitung der Histochemie in ein neues Stadium getreten. Die Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Geschmacksknospen (GK) der Pilzpapillen der Säugertunge (Maus¹, Ratte²) sprechen dafür, dass nur eine Zellart am Aufbau der GK beteiligt ist, die bei gleichartiger intracellulärer Organisation je nach ihrem Entwicklungsgrad differente Erscheinungsbilder bietet und deren Vorläufer in den Basalzellen der Knospe zu suchen sind.

In Ausdehnung der Untersuchungen auf niedere Vertebraten wurden an den GK der Axolotlzunge (neotene Tiere von *Siredon mexicanum*) folgende Befunde erhoben: Die Knospe ist von rundlich-ovaler Gestalt, besitzt ein offenes «Geschmacksfeld» und steht, an den Seiten vom Schleimhautepithel umgeben, auf einem Bindegewebssockel.

Elektronenmikroskopisch lassen sich vier verschiedene Zellarten nachweisen: 1) die peripher gelegenen Randzellen (R); 2) die basalen, granulierten Zellen (G); 3) und 4) die den Raum der Knospe füllenden hohen Zellen vom Typ A und B, welche mit ihren apikalen Ausläufern die Oberfläche des «Sinnesfeldes» bilden (Figur 1).

Die R-Zellen vermitteln den Eindruck wenig differenzierter Gebilde. So zeigt das endoplasmatische Retikulum (ER) nur eine geringe Ausdehnung. Die Ribosomen liegen meist frei im Grundcytoplasma. Kleine Golgi-Komplexe sind nur gelegentlich zu beobachten. Die Zahl der Mitochondrien ist verhältnismässig niedrig.

In der basalen Region der Knospe fallen unterschiedlich geformte Zellen durch ihren granulären Inhalt auf. Die Granula haben einen Durchmesser von 800–1000 Å und besitzen einen elektronendichten Kern, der von einem

hellen Hof und einer Membran umgeben ist. Diese G-Zellen können mit breiter Fläche an der Basalmembran liegen, wobei sie eine mehr oder weniger dreieckige Form einnehmen. Die Granula sind dann im gesamten Zellbereich zu finden. Der Zellkern ist kaum gefaltet. Häufiger begegnet man G-Zellen, die nur noch wenig oder keinen Kontakt mehr mit der Basalmembran aufweisen und die sich in langgestreckter Form etwas höher in den Knospenzellverband «eingeschoben» haben. Dabei fällt ihre basale bzw. infranucleäre Anreicherung der Granula auf. Die Kerne sind stärker gefaltet. Auch bei den G-Zellen sind ER und Golgi-Komplexe weniger auffällig. Beim Vergleich mehrerer langgestreckter G-Zellen lässt sich eine unterschiedlich ausgeprägte intracelluläre Organisation beobachten. So kann man im supranucleären Bereich ein schwach entwickeltes und unregelmässig verlaufendes ER, freie Ribosomen, kleine, vorwiegend vesikulär ausgebildete Golgi-Komplexe, zahlreiche Bläschen, fibrilläres Material und einzelne der charakteristischen Granula finden. Die ganze Region macht einen «ungeordneten» Eindruck. Die Hauptmenge der Granula liegt infranucleär. Mit Beginn einer gewissen «Ordnung» im supranucleären Bereich, welche sich besonders in einem apikalwärts gerichteten Verlauf des nun auffälligeren ER äussert, ist eine Abnahme des granulären Materials verbunden. Der supranucleäre Abschnitt zeigt dann auch meist eine grössere Ausdehnung in Richtung zur Knospenoberfläche; der Kern ist weniger gefaltet. Diese G-Zellen nähern sich in ihrem Aussehen den B-Zellen.

Die B-Zellen findet man immer in einem gewissen Abstand von der Basalmembran, wobei jedoch der kernhaltige Abschnitt verhältnismässig tief in der GK liegt.

¹ G. HOFFMANN, Diss. Göttingen (1965).

² W. FÄHRMANN, G. HOFFMANN und E. SCHUCHARDT, Naturwissenschaften 52, 438 (1965).