

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. med. ERNST LEUPOLD).

Über die Morphologie der Nebenniere von Ratten bei Transplantationstumoren*.

Von

ALBERT HUHNS und PETER SCHNEPPENHEIM**.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Mai 1954.)

Bei der zentralen Stellung der Nebennieren im System der inkretorischen Drüsen ist es natürlich, daß sie bei verschiedenartigsten Allgemeinzuständen Wandlungen ihrer morphologischen Struktur erfahren, die auf ihre veränderte Funktion schließen lassen. Strukturveränderungen der Nebenniere, besonders der Rinde, sind seit langer Zeit für Infektionskrankheiten bekannt (DIETRICH). Wandlungen der Morphologie der Nebenniere sind bei Herz- und Gefäßkrankheiten mitgeteilt (LIEBEGOTT). Häufig wird auch über Veränderungen der Nebenniere bei bösartigen Tumoren berichtet (COHN, PAUNZ, THOMAS).

In der experimentellen Forschung sind gleichfalls Strukturveränderungen an der Nebenniere bei verschiedenartigen allgemeinen Affektionen beobachtet worden (BOGUTH, LANGENDORFF und TONUTTI; CREUTZFELDT, HUSTEN und HAGER; EGER; TONUTTI). Dagegen ist das Verhalten der Nebenniere bei experimentellen Tiertumoren wenig untersucht (BALL und SAMUELS; BEGG; DALTON und PETERS; DIES, MITCHELL und JONES; McEWEN und SELYE; McEWEN und KROPP; HAVEN, BLOOR und RANDALL; HOEPKE).

Übereinstimmend wird eine Nebennierenvergrößerung oder -volumenzunahme mitgeteilt (McEWEN und KROPP; HOWARD, BALL und SAMUELS; HUGGINS und BERGENSTAL). Einige führen die Gewichtszunahme der Nebennieren auf vermehrte Wassereinlagerung zurück (DILLER, BLANCH und BECK; McEWEN und KROPP). Andere machen ausgedehnte Zellinfiltrate, die in der Nebennierenrinde der Tumortiere gefunden werden können, für die Größenzunahme verantwortlich (DALTON und PETERS, DIES, MITCHELL und JONES; McEWEN und SELYE, McEWEN und KROPP; SELYE und STONE). Auf Resorption von toxischen Substanzen beim Zerfall des Tumors und dem veränderten Allgemeinstoffwechsel beruht nach DILLER, BLANCH und BECK die Volumenzunahme des Organs.

In der vorliegenden Arbeit, die sich auf Untersuchungen bei dem Walker-Carcinom 256 stützt, sollen die Veränderungen der Nebenniere

* Herrn Professor Dr. med. ERNST LEUPOLD zum 70. Geburtstag gewidmet

** Wir danken Herrn Dozent Dr. A. GOEBEL für die Anleitung bei der Durchführung der Arbeit.

und ihre formale Genese beschrieben werden. Weiter soll untersucht werden, ob die Größenzunahme durch eine Vergrößerung oder eine Vermehrung der Nebennierenzellen zustande kommt und welche Beteiligung Interrenal- und Adrenalorgan hierbei erfahren. Schließlich soll zur Frage der Ätiologie der Nebennierenveränderungen Stellung genommen werden.

Tierexperimentelle Methodik.

Zur Untersuchung dienten Wistar-Albino-Ratten. Alle Tiere wurden einzeln in Metallkäfigen bei einer Raumtemperatur von 22—24° Celsius gehalten. Sie erhielten als Nahrung eine konstante Menge Mischkörnerfutter (Mais, Hirse, Hafer, Weizen), Karmeln und Milcheiweiß, sowie genügend Trinkwasser. Zur Transplantation eignen sich nach unseren Erfahrungen am besten 5—7 Tage alte und 2—4 g schwere Tumoren, die zu diesem Zeitpunkt kaum Nekrosen aufweisen. Alle Ratten wurden vor der Transplantation und vor dem Tod gewogen.

Die erste Versuchsserie umfaßt 36 ausgereifte Ratten beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 188 ± 7 g. Die zweite Serie besteht aus 32 männlichen noch nicht voll ausgereiften Ratten mit einem Körpergewicht von $97,5 \pm 12,5$ g. Den Tieren dieser beiden Serien wurde das Walker-Carcinom in der üblichen Weise transplantiert. Die dritte Serie umfaßt 20 männliche Tiere mit einem Gewicht von 108 ± 8 g, denen eine sterile, in physiologischer NaCl-Lösung verdünnte, tumorzellfreie Suspension (nekrotischer Tumorbrei) injiziert wurde. Die Kontrollserie umfaßt 10 Tiere, davon 5, die der ersten und 5, die der zweiten und dritten Serie entsprechen.

Bei den Tieren der ersten Serie wurde der Spontanod abgewartet, der im Durchschnitt 23—28 Tage nach der Transplantation eintrat. Um Fäulnisveränderungen zu verhüten, wurden die Tiere der zweiten und der dritten Serie unmittelbar vor dem zu erwartenden Tod teils in leichter Äthernarkose, teils nach Nackenschlag seziert. Die letzte Methode gelangte auch bei den Kontrolltieren zur Anwendung. Anschließend wurden sofort die Nebennieren entnommen und fixiert, der Tumor gewogen und das Ausmaß der Nekrosen im Tumor in Prozent vom Gesamttumor festgesetzt (Tabelle¹). Da sich beim Walker-Carcinom die Nekrosen gegen das intakte Tumorgewebe gut absetzen, war die Bestimmung der Nekrosengröße relativ einfach. Nekrobiotische Veränderungen an einzelnen Zellen wurden außer acht gelassen und nur größere nekrotische Zellkomplexe berücksichtigt. Wenn auch nur eine grobe Aussage über den prozentualen Anteil der Nekrose am Tumorgewebe gemacht werden kann, so ist diese Aussage zur Beantwortung der Frage erwünscht, ob die an den Nebennieren sichtbaren Veränderungen bei vorwiegend intaktem Tumorgewebe auftreten oder durch die Abbauprodukte bei ausgedehnten Nekrosen entstehen können (SELYE und STONE).

Es wurde versucht, die „Virulenz“ des Tumors in einen quantitativen Ausdruck zu fassen. Die „Virulenz“ ist abhängig von der Lebensdauer des Tieres nach der Transplantation und von der Größe (Gewicht) des Tumors (LEUPOLD, HUHN, SCHNEPPENHELM). Die von v. ALBERTINI angegebene quantitative „Virulenzbestimmung“ ist hier weniger brauchbar, da beim Walker-Carcinom das infiltrierende Wachstum fehlt. Die „Virulenz“ wird für unseren Fall besser ausgedrückt durch die nachfolgende Relation, ist doch im Gegensatz zu den meisten menschlichen, bösartigen Geschwülsten Größe, Gewicht und Wachstumsbeginn genau bekannt. Ein großer Tumor ist nicht unbedingt mit einer kürzeren Lebensdauer des Tieres verbunden; andererseits wirken manche kleinere Tumoren auf die

¹ Tabelle kann von den Verfassern angefordert werden.

Lebensdauer verkürzend, sind demnach „virulenter“. Im vorliegenden Fall wird die „Virulenz“ durch die Relation

$$1$$

Tumorgewicht \times Lebensdauer (nach der Transplantation)

angegeben. Diese Relation ist naturgemäß nicht ohne Einschränkung anwendbar. So führen bei Tumortieren infolge allgemein herabgesetzter Resistenz interkurrente Krankheiten (z. B. Pneumonie) gelegentlich zum Tode. Es ist verständlich, daß die Lebensdauer hiervon wesentlich abhängt. Nur solche Tiere wurden verwendet, bei denen bei der Sektion eine andere Erkrankung als der Tumor nicht gefunden wurde.

Histologische, histochemische und histometrische Untersuchungsmethoden.

Die Körperorgane der Tiere wurden in Formol fixiert und Gefrierschnitte hergestellt, die mit Hämalaun-Eosin und Sudan III gefärbt wurden. Die linke Nebenniere aller Ratten wurde in 4prozentigem, säurefreiem Formalin, die rechte in einem Gemisch von 9 Teilen Susa (HEIDENHAIN) und 1 Teil gesättigter Pikrinsäure über 24 Std fixiert. Danach wurde 12—18 Std gewässert und die Drüse in 70prozentigem Alkohol aufbewahrt. Nach sorgfältiger Präparierung und Entfernung noch anhaftender Fett- und Bindegewebssteile wurden die Nebennieren in einem Wäagegläschen gewogen. Um eine einheitliche Messung zu gewährleisten, wurden sie vor dem Wiegen zum Abtrocknen auf Filterpapier gelegt. Die rechte Nebenniere von 9 Tumor- und 4 Kontrolltieren wurde nach WIESEL chromiert.

Nach Einbettung in Paraffin und Herstellung 4 μ dicker Schnitte gelangten folgende Färbemethoden zur Anwendung:

a) Am Susa-Pikrinsäure fixierten Material: Hämalaun-Eosin, Azan, Masson-Trichromfärbung (Modifikation nach GOLDNER), Silberimprägnation nach TIBOR PAP und GOMORI, Eisennachweis nach TURNBULL, Berlinerblau-Reaktion, Nuclealreaktion nach FEULGEN, VAN GIESON-Elasticafärbung, Fibrinfärbung nach WEIGERT, BESTsche Karminfärbung, Peroxydasereaktion, Amyloidnachweis mit Kongorot und Methylviolett.

b) An den in Formalin fixierten Gefrierschnitten (8 μ dick): Sudan III, Sudan-schwarz-B (LISON), Nilblausulfat (LORRAIN-SMITH in der Modifikation nach KLEBERG), Plasmalreaktion, 2,4-Dinitrophenylhydrazinreaktion (ALBERT und LEBLOND, sowie nach ASHBELL und SELIGMAN), Cholesterinnachweis nach SCHULTZ.

Ferner erfolgte die Untersuchung ungefärbter 50 μ dicker Schnitte mit dem Polarisationsmikroskop auf doppeltbrechende Substanzen. Einige Schnitte der formalinfixierten Nebennieren wurden mit Azeton behandelt und für die oben beschriebenen Reaktionen als Testschnitte angesehen.

c) Gegenfärbung der nach WIESEL chromierten Nebennieren mit Toluidinblau und Safranin.

Unter dem Projektionsapparat von Leitz wurden bei 150facher Vergrößerung an 20 μ dicken Serienschnitten Rinden- und Markanteil mit Bleistift auf weißes Papier gezeichnet. Sodann erfolgte mit Hilfe des Orrtschen Planimeters auf allen Umrißzeichnungen die Messung der beiden Flächen. Aus den so bestimmten Werten wurde der prozentuale Anteil von Rinde und Mark ermittelt. Unter Berücksichtigung der im Abstand von 20 μ gelegten Stufen wurde das Gesamtvolumen der Nebenniere und das Volumen von Rinde und Mark errechnet (Tabelle 1).

Bei der Auszählung der vorhandenen Zellkerne der Zona fasciculata wurde das größte Trockenobjektiv eines binokularen Mikroskops mit einem mechanischen Kreuztisch verwendet. In einen der beiden Okularstützen wurde ein Okularmikrometer von Zeiss eingesetzt. Zur Bestimmung der Zellzahl in einem 0,25 mm² großen Meßquadrat wurde jede Zelle mit distinktem Kern ausgewählt, wobei die

¹ Tabelle kann von den Verfassern angefordert werden.

Zellen an 2 Randlinien des Meßquadrates mitgezählt wurden. Das angewandte Verfahren gleicht der beim Auszählen roter Blutkörperchen gebräuchlichen Methodik.

Zur Bestimmung der Zellkerndurchmesser in der äußeren Fasciculata diente das Schraubenokularmikrometer (Leitz). Da in unserem Untersuchungsgut die Zellkerne dieser Zone annähernd kugelförmig sind, erfolgte die Bestimmung der Kernvolumina nach der Formel $\frac{4}{3}\pi \cdot r^3$. Durch Errechnung der Zellzahl der Nebennierenrinde und Kerndurchmesserbestimmung waren Aussagen über die Wachstumsvorgänge der Nebennierenrinde möglich.

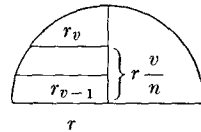
Der Einwand, daß bei der Bestimmung der Kerndurchmesser in der äußeren Fasciculata (4.—10. Zellreihe), durch die unterschiedliche Schnitthöhe, in der die einzelnen Zellkerne getroffen werden, im Gesamtdurchschnitt ein zu kleiner Radius gemessen wird, entfällt auf Grund der nachfolgenden Überlegung: Nimmt man an, daß in der Nebennierenrinde die Kerne als Kugeln mit dem Radius r in einer bestimmten Dichte verteilt sind und der mittlere Durchmesser der Kugelschnittfläche bestimmt wird, so ist dieser, wenn man die Schnittdicke so wählt, daß auf einen Kugelradius n Schnitte fallen, bei Voraussetzung einer gleichmäßigen Verteilung der Kugeln:

$$R = \left(\frac{1}{n} \sum_{v=1}^n r_v \right) + w_n,$$

wobei r_v der Radius einer Kugel ist, der in der Höhe $r \frac{v}{n}$ vom Schnitt getroffen wird, w_n ein Glied mit $\lim_{n \rightarrow \infty} w_n = 0$ (falls $r_v - r_{v-1}$ die Meßgenauigkeit unterschreitet, kann $w_n = 0$ gesetzt werden).

Es ist nun

$$r_v = r \sqrt{1 - \frac{v^2}{n^2}};$$



daher folgt

$$R = r \cdot \frac{1}{n} \sum_{v=1}^n \sqrt{1 - \frac{v^2}{n^2}} = r \cdot a_n,$$

wobei a_n von r unabhängig ist.

Für $n \rightarrow \infty$ erhalten wir

$$R = r \cdot \lim a_n.$$

Der hier auftretende systematische Fehler wird daher bei Verwendung von Relativwerten $\frac{R_1}{R_2}$ eliminiert¹.

Zur Abschätzung der Fehlergenauigkeit bei der Messung der Kerndurchmesser der Nebennieren bei den einzelnen Versuchs- und Kontrollieren legten wir die TSCHEBYSCHESCHE Ungleichung zugrunde. Diese besagt, daß die Wahrscheinlichkeit dafür, daß bei n Versuchen der Betrag der Differenz (δ_n) zwischen dem wahren und dem berechneten Mittel größer gleich ε ist, — die Wahrscheinlichkeit sei

$$w(|\delta_n| \geq \varepsilon) = \frac{1}{n} \cdot \frac{\zeta^2}{\varepsilon^2} \text{ ist.}$$

Dabei ist ζ^2 das Streuungsquadrat der betrachteten Meßreihe. Dies wurde abgeschätzt als kleiner gleich 1.

¹ Herrn Dr. H. K. SCHUFF vom mathematischen Seminar der Universität Köln danken wir für die Beratung bei der mathematischen Auswertung der histometrischen Befunde.

Methodenkritik.

Die Prüfung des Funktionszustandes eines Organs nach morphologischen Kriterien durch Anwendung einer Vielzahl histologischer, histochemischer und histometrischer Methoden ist bei weitem ergiebiger als beispielsweise nur die Wägung der Organe und der daraus abgeleitete Schluß einer Atrophie oder Hypertrophie. Es ist auch nicht sicher, daß man mit der Polarisation allein, wie WEAVER und NELSON glauben, eindeutige Angaben über die Aktivität der Nebennierenrinde machen kann.

Nach den Erfahrungen der letzten Jahre hat sich bei der Untersuchung der Nebennierenrinde neben den üblichen Färbemethoden wie Hämalaun-Eosin, Azan und GOLDNER, die Prüfung der Sudanophilie und des Gehaltes an doppeltbrechenden Substanzen im Polarisationsmikroskop unter anderem der Nachweis von Cholesterin, der Ascorbinsäure, der Carbonyllipoide und des Plasmals als besonders wertvoll erwiesen. Die LIEBERMANN-BURCHARDTSche Reaktion in der Modifikation nach SCHULTZ am histologischen Schnitt ist heute allgemein anerkannt und üblich. Zuletzt hat noch KENT über die Spezifität dieser Methode berichtet.

Von besonderer Bedeutung ist der Nachweis der spezifischen Reaktionsprodukte der Nebennierenrinde. Die ersten histochemischen Ketosteroidnachweise wurden von BENETT, POLLOCK, DEMPSEY und BASSETT, WISLOCKI und BENETT geführt. In späteren Jahren sind diese Untersuchungen weiter ausgebaut worden (ALBERT und LEBLOND; ASHBELL und SELIGMAN; DEMPSEY und WISLOCKI).

Den Ketosteroiden werden folgende histochemische Charakteristiken nachgesagt: Sudanophilie, Reaktion mit Carbonylreagenzien, Doppelbrechung, Acetonlöslichkeit und Autofluoreszenz. Jede dieser Reaktionen hängt von einer bestimmten physikalischen oder chemischen Konstitution des Steroids ab. Keine von ihnen ist spezifisch für Ketosteroide. Bis heute ist jedoch außer den Ketosteroiden keine Substanz bekannt, die alle 5 Reaktionen ergibt. Wir fassen die von uns angewandte 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Reaktion (ALBERT und LEBLOND) als Nachweis von Carbonyllipoiden auf. Zum direkten Nachweis von 17,20-Ketosteroiden wurde von ASHBELL und SELIGMAN das Hydrazin der 2-Hydroxy-3-naphthanylsäure angegeben, das mit aktiven Carbonylgruppen reagiert. Nach anschließender Behandlung mit tetraazoiertem Diorthoanisidin entsteht ein intensiv blauer Azofarbstoff. Die mit dieser Reaktion erzielten Ergebnisse waren besser als die, welche mit der von ALBERT und LEBLOND angegebenen Methodik gewonnen wurden. Die mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin gefärbten Präparate wurden nicht gegengefärbt, jedoch zum Vergleich photographiert. Dabei wurde bei allen Schnitten auf gleiche Färbedauer und bei allen Aufnahmen auf gleiche Belichtungszeit und gleiche Zeit, innerhalb der photographiert wurde, geachtet. Das Nebennierenmark nimmt kaum oder gar nicht an der Farbreaktion teil. Um die positive Anfärbbarkeit der Rinde einheitlich zu beurteilen, ist bei der Fertigung der Präparate auf übereinstimmende Farbintensität des Nebennierenmarkes geachtet worden. Zieht man ungefärbte Schnitte zum Vergleich heran, so ist eine Beurteilung dieser Farbreaktion nicht leicht, erlaubt doch die blaßgelbe Eigenfarbe der formolfixierten Schnitte über den Steroid- bzw. Carbonyllipoidgehalt keine exakten Aussagen. Zur Frage der Spezifität dieser Reaktionen sei noch hinzugefügt, daß sie nicht nur in den Nebennieren positiv ausfallen, es färben sich auch in unterschiedlicher Farbintensität Herzmuskelzellen, die weiße Substanz des zentralen Nervensystems, die markhaltigen peripheren Nerven, sowie Leberzellen, Bindegewebe und Amyloid an, wofür ASHBELL und SELIGMAN Proteolipoide mit freier Ketogruppe verantwortlich machen.

Man mag noch so berechtigte Zweifel bei einzelnen der heute allgemein angewandten histochemischen Untersuchungsmethoden, z. B. bei der qualitativen und

quantitativen Auswertung der Fett- und Lipoidsubstanzen haben — die mikroskopisch sichtbare Fettmenge kann bei gleichem Fettgehalt überaus wechselnd sein —, in ihrer Gesamtheit lassen sie jedoch Rückschlüsse auf den Funktionszustand der Nebennieren zu.

Eine Ergänzung der durchgeführten histochemischen Untersuchungen durch parallel laufende chemische Analysen wurde nicht gemacht, da sie über den Rahmen dieser Arbeit hinausgingen.

Die Berechnung des quantitativen Verhältnisses der Kernvolumina zu den übrigen Gewebsanteilen erfolgte auf Grund der Flächenrelation. Diese entspricht in einem 4 μ dicken Schnitt mit genügender Genauigkeit den quantitativen Raumverhältnissen der Gewebekomponenten. Nimmt man also an, daß das Volumenverhältnis gleich dem Flächenverhältnis ist, so hebt sich der hierbei gemachte systematische Fehler bei den betrachteten Relativwerten heraus. Der prozentuale Anteil der Kerne, der sich aus dem Flächenverhältnis ergibt, gilt somit auch für den Anteil des Gesamtvolumens der Kerne am Gesamtvolumen der Rinde. Bei Berücksichtigung des durchschnittlichen Einzelkernvolumens kann somit auf die Gesamtzahl der Nebennierenrindenkerne geschlossen werden. Dabei wird die zonale Gliederung mit ihrer unterschiedlichen Kernstruktur nicht berücksichtigt. Da die Verhältniszahlen mit gleicher Methodik gewonnen wurden, sind sie brauchbare Vergleichswerte zur Bestimmung des Anteils der Kernvolumina am Gesamtvolumen der Rinde.

Ergebnisse.

An den inneren Organen fanden wir in Übereinstimmung mit anderen Untersuchern die für das Walker-Carcinom beschriebenen Veränderungen, wie Zeichen der Anämie, Milzvergrößerung, Lebernekrosen, Nephrose, Involution der Thymusdrüse u. a. (BEGG; BALL und SAMUELS; HOWARD, BALL und SAMUELS). Auf ihre ausführliche Wiedergabe wird an dieser Stelle verzichtet.

Histologische Befunde.

Im folgenden sollen die histologischen Befunde an den Nebennieren der Tumortiere zusammenfassend beschrieben werden:

Gegenüber der normalen Rattennebenniere ist die Nebenniere der Tumortiere vergrößert und die Kapsel durch ein faseriges Bindegewebe verdickt. In der Kapsel finden sich zahlreiche Blutgefäße und große Kerne von bauchiger bis ovaler Gestalt und hellem, bläulichem Farbton.

Die helle Zona glomerulosa ist durch eine dünne Schicht von Zellen mit pyknotischen Kernen von der Bindegewebskapsel getrennt. Während man in der normalen Rattennebenniere sehr selten Mitosen antrifft, sieht man sie nach Durchmusterung vieler Gesichtsfelder bei den Tumortieren unter der Kapsel und in der äußeren Fasciculata häufiger. Die Zellhaufen der Glomerulosa gehen ohne den normalerweise erkennbaren Übergang in die Fasciculata über. Letztere ist im H.E.-Präparat durch zwei klar zu trennende Schichten gekennzeichnet. Die Grenze liegt etwa zwischen dem mittleren und inneren Drittel.

Im Gebiet der äußeren zwei Drittel liegen neben Zellen mit dichtem Protoplasma große, helle Zellen mit zentral gelegennem Kern, in diesem scharf blau angefärbte Chromatinbröckel und ein dunkel-basophiler Nucleolus. Die Zellgrenzen sind teilweise verwaschen. Die Zellen erscheinen stark gequollen (Abb. 1). Die Kerne sind häufig in Auflösung begriffen. Die starke Quellung und Vacuolisierung ist nach Formalinfixation im Gefrierschnitt am besten sichtbar und wird nach

Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe und Einbettung in Paraffin zu einem Teil aufgehoben.

Bei den erwähnten Cytoplasmavacuolen handelt es sich um überwiegend fett- und glykogenfreie Hohlräume im Zelleib, die in vielen Fällen ohne anfärbbaren Inhalt sind, sich jedoch in Einzelfällen bei Sudanfärbung feinstäubig rötlich-gelb tingieren und gegen das umgebende Protoplasma scharf absetzen (Abb. 2c). Mit Trichrommethoden läßt sich in manchen Vacuolen ein offenbar eiweißarmer, meist homogener, manchmal auch körniger Inhalt nachweisen, der fibrinpositiv, sich bei Azanfärbung hellblau, nach GOLDNER hellgrün anfärbt. Die meisten Vacuolen imponieren jedoch als optisch leere Räume. In manchen verliert

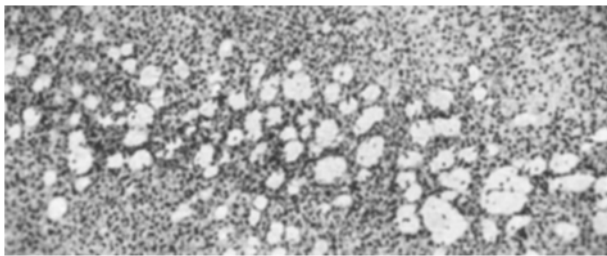


Abb. 1. H.-E.-Färbung, Vergrößerung 100mal. Hydropisch degenerierte Zellen. Äußeres Drittel der Zona fasciculata eines Tumortieres.

sich im Azanpräparat die blaßblaue Eiweißfällung unscharf gegen die helle Umgebung. Viele enthalten einen bei Trichrommethoden deutlichen Begrenzungsring wechselnder Breite, der anscheinend aus koagulierte Eiweiß besteht (Abb. 2c).

Die Größe der Vacuolen schwankt beträchtlich. Einige erreichen gerade die Größe eines Nucleolus, andere übertreffen um das Vielfache den Fasciculatazellkern. Kleinere Vacuolen sind rund, größere passen sich den Raumverhältnissen der Zelle an. Mit dem Auftreten der Vacuolen geht eine Zellvergrößerung einher. Gleichzeitig ist eine Kompression der angrenzenden Capillaren nachweisbar. Schon dem unbewaffneten Auge fallen diese Partien der äußeren Fasciculata deutlich als helle Bezirke auf. Für die Lage der Vacuolen in der Zelle zum Zellkern konnten keine Gesetzmäßigkeiten gefunden werden. Auffallend war, daß einzelne mittelgroße bis große Vacuolen häufig mehr im Inneren der Zelle zu finden waren, so daß der Kern aus dem Zentrum der Zelle verdrängt, unmittelbar an die Vacuole grenzend, oft an einer Seite eingedellt oder sichelartig verformt war und dabei Zeichen der Pyknose aufwies (Abb. 2b, 2c). Das Ausmaß der Vacuolisierung in dem Organ als ganzem und in der einzelnen Zelle geht nicht parallel. In Nebennieren mit nur wenig hydropischen Zellen kann doch die einzelne Zelle viele Vacuolen wechselnder Größe aufweisen.

Neben diesen großen, vacuolenhaltigen Zellen sieht man nun Fasciculatazellen, die in ihrer Größe eine Mittelstellung zwischen Zellen der äußeren Fasciculata der normalen Ratten und den vacuolenreichen Zellen der Nebennieren der Walker-Carcinom-Ratten einnehmen. Hier ist es zu einer Aufhellung und wabigen Umwandlung des Cytoplasmas gekommen (Abb. 2a). Fett- und Lipoidreaktionen sind negativ oder

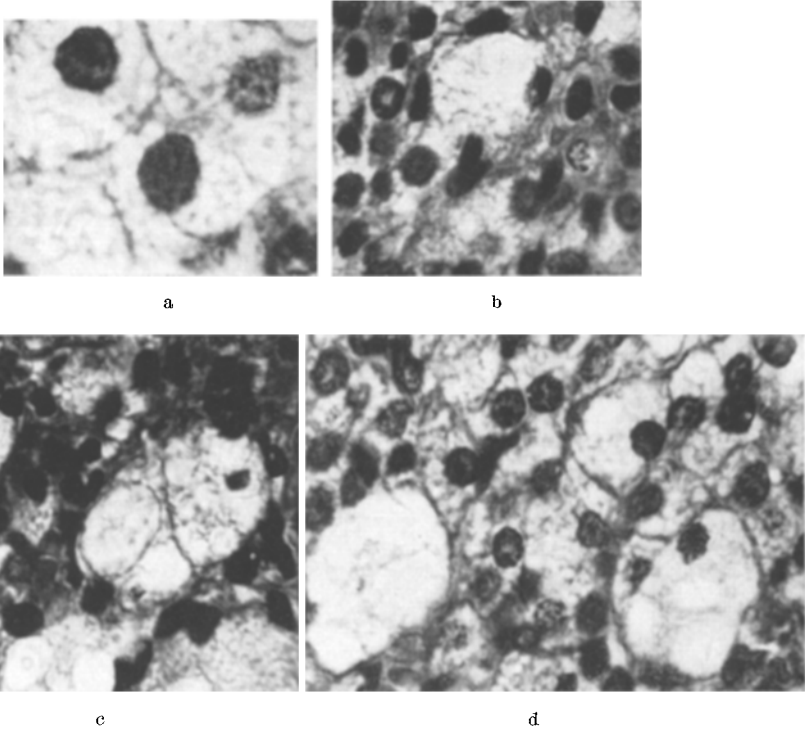


Abb. 2a—d. a H.-E.-Färbung. Vergr. 2000mal. Frühstadium der hydropischen Degeneration. Kranz kernnaher Vacuolen. Multiple, flache Dellen hyperchromatischer Zellkerne. Feinvacuoläre Umwandlung des Protoplasmas. b H.-E.-Färbung. Vergr. 1000mal. Vacuoläre Umwandlung des Protoplasmas. Zusammenfließen kleiner Vacuolen. Randstellung und Hyperchromatose einzelner Fasciculatazellkerne. c H.-E.-Färbung. Vergr. 1000mal. Durch Zusammenfließen von kleineren entstandene große Vacuolen mit dünnen lackartigen Begrenzungsringen. Randstellung verdämmender Kerne. Körnige, fädige Eiweißeinschlüsse. d H.-E.-Färbung. Vergr. 1000mal. Die 3 Stadien der hydropischen Degeneration. Feinvacuoläres Cytoplasma, Randstellung des hyperchromatischen Kerns. Zusammenfließen größerer Vacuolen mit randständigen verdämmenden Kernen. Beginnende Bildung von „drüsenähnlichen“ Lumina.

sie sind sehr schwach und atypisch. Es findet sich eine hochgradige Entlipoidisierung an Orten, wo normalerweise mit reichlich Lipoid- und Neutralfett beladene Zellen liegen. In diesen Zellen findet man selten frühe Stadien degenerativer Kernveränderungen. Als frühe Stadien solcher Kernveränderungen möchten wir eine gröbere Chromatinzeichnung und eine Abnahme der Helligkeit der Kernblasenflüssigkeit deuten

(Abb. 2a). Die entlipoidisierten, im Cytoplasma aufgehellten, die normalen Fasciculatazellen an Größe übertreffenden Zellen sehen wir als Vorstadien der sog. hydropischen Degeneration an.

Als dritte Form von Zellveränderungen finden sich Zellen wechselnder Größe, die nur noch leere Zellräume darstellen (Abb. 2d) und durch dichte Lagerung „drüsenähnliche“ Lumina bilden können. In ihnen können keine Kerne, vereinzelt nur noch Kerntrümmer nachgewiesen werden; sie sind nekrotisch. BECKMANN war anscheinend der erste, der diesen Lumina besondere Bedeutung beimaß. Die „drüsenähnlichen“ oder „tubulusgleichen“ Hohlräume, denen man bei bestimmten Zuständen eine dauerhafte Struktur zuerkennen wollte, sind in späteren Jahren noch eingehend untersucht worden (DIETRICH, PAUNZ, RICH, THOMAS). SELYE und STONE führen sie auf eine Überstimulierung der Nebennierenrinde zurück.

Zwischen den oben als Hauptformen beschriebenen Zellveränderungen gibt es alle Übergänge; die formale Entwicklung der zuletzt beschriebenen nekrotischen Zellen in der äußeren Zona fasciculata der Tumortiere dürfte nach der Entlipoidisierung über das Stadium der vacuolären Zellveränderung zur Nekrose ablaufen.

Vacuolenbildungen dieser Art haben nur einen bedingten Beurteilungswert. Ein Zeichen des Zelltodes sind sie nicht. SIEGMUND betont, daß sich „aus dem morphologischen Bild unter Berücksichtigung der Feinstrukturen des Protoplasmas allein nicht mit hinreichender Sicherheit herauslesen läßt, ob eine Vacuolenbildung Ausdruck einer gesteigerten oder herabgesetzten Lebensfähigkeit ist, ob der vorliegende Zustand reversibel oder irreversibel ist und unweigerlich in die Nekrose hineinmünden wird“. Doch weisen die gezeigten irreversiblen Kernveränderungen in den vacuolenhaltigen Zellen darauf hin, daß in unserem Falle die Vacuolen als Störung der Zellstoffwechselvorgänge mit Merkmalen der Katabiose, der irreversiblen Zellveränderung, des langsam sich entwickelnden Zelltodes gedeutet werden müssen.

Diese Veränderungen, insbesondere die vacuoläre Degeneration, sind an der Leber und im Herzmuskel schon länger bekannt und von BÜCHNER u. a. als pathognomonisch und weitgehend charakteristisch für O_2 -Mangelzustände angesehen worden (ALTMANN; Ders. und SCHUBOTHE; BÜCHNER, GRUNDMANN, HESSE, MÜLLER, ROTTER, Dies., CAROW und KLOOS, PICHOTKA). Dabei denkt man übereinstimmend an ein Einstromen von Blutwasser. Auch aus Zoologie und Botanik lassen sich weitere Stützen dieser Theorie anführen.

Wenn man sich nun gewisse Anhalte über den zeitlichen Ablauf der Nekrose der Fasciculatazellen schaffen will, so sei daran erinnert, daß PICHOTKA schon nach 15minütigem akutem, starkem O_2 -Mangel Vacuolisierung von Leberzellen gesehen hat. Auf der anderen Seite ist für die Entstehung der Vacuolen als nekrobiotischer Vorgang zu fordern, daß die Nekrobiose langsam vor sich geht, da schnelle Protoplasma-koagulation die Wasseraufnahme unmöglich macht.

An dieser Stelle soll eine grundsätzliche Überlegung angeschlossen werden, wenn dabei auch auf Ergebnisse Bezug genommen wird, die unter den histochemischen Befunden im einzelnen mitgeteilt werden. Sie betrifft die *kausale* Genese der oben beschriebenen Form der Nekrose. Alle Untersuchungsmethoden, insbesondere die histochemischen und histometrischen zeigen, daß die funktionelle Leistungsfähigkeit der Nebennieren unter dem Einfluß des Transplantationstumors zunächst gesteigert wird. Dabei ist es zu einer Erschöpfung gerade der äußeren Zona fasciculata gekommen, die den Hauptanteil an dieser funktionellen Mehrleistung gehabt hat. Dieser Erschöpfungszustand ist von großer Bedeutung für das Einsetzen des Zelltodes. Die Zelle oder der Zellverband kann einmal in der Ruhephase, ein anderes Mal in der Phase erhöhter Zelleistung von einem tödlichen Ereignis getroffen werden.

Zellen einer Zellaufschwemmung, die sich in mitotischer Teilung befinden, sind gegen künstliche Veränderungen des umgebenden Mediums im allgemeinen viel empfindlicher als Zellen im Ruhestadium (ZOLLINGER). Eine Strahlendosis, die im Ruhestand der Zelle nicht zur Schädigung führt, kann im geeigneten Mitosestadium tödlich werden (LANGENDORFF). BÜCHNER weist darauf hin, daß bei allgemeiner Hypoxämie die funktionell stärker belastete Muskulatur der linken Herzkammer vor der rechten versagt.

Diese Überlegungen können für die kausale Genese der Nekrose gerade dieser Zellen herangezogen werden, indem man annimmt, daß toxisch wirkende Eiweißprodukte des Tumors durch Summation auf die durch restlose Ausschüttung der zellspezifischen Bildungsprodukte erfolgte Erschöpfung zur tödlichen Belastung des erhöhten Zellstoffwechsels werden.

Art und Geschwindigkeit der bei der Nekrose ablaufenden Vorgänge sind weitgehend abhängig von der Differenzierungshöhe der Zellen und des Gewebes und von der Menge der vorhandenen intracellulären, autolytisch wirksamen Fermente. Bei Fermentreichtum der toten Zelle werden autolytische Abbauvorgänge beschleunigt. Sie erfolgen schneller bei hochdifferenzierten Zellen als an einfachen Strukturen. Sie sind weiter abhängig von den Beziehungen zur Umgebung, von der Geschwindigkeit der Durchspülung — Wirksamkeit heterolytischer Fermente —, von der Aufstauung von Abbauprodukten und von Ionenbewegungen (Einstromen von Kalium- und Abströmen von Natriumionen), der Ladung im Nekrosebereich, die eine langsame oder schnelle optimale Wirkungsmöglichkeit für die auto- und heterolytischen Fermente schaffen können.

Es finden sich keine Hinweise aus dem morphologischen Bild, die auf eine gerade in dieser Zellzone bestehende, besonders schlechte O₂-Versorgung hinweisen, wenn man nicht die total erschöpfte Zelle als besonders sauerstoffbedürftig auffassen will, so daß es sich für diesen Fall um eine relative Hypoxämie handeln könnte.

Von den äußeren zwei Dritteln zum inneren Drittel der Fasciculata folgt ein langsamer Übergang der Zellen mit oxyphil angefärbtem, homogenem Plasma. Ein Teil der Zellkerne weist pyknotische und karyolytische Veränderungen auf; die Zellgrenzen sind unscharf. An der Markrindengrenze hat das Plasma die höchste Farbintensität erreicht.

Hier seien einige Bemerkungen zur Histogenese der Nebennierenrinde eingeschaltet. Es ist eine von verschiedenen Autoren angenommene (allerdings keineswegs völlig gesicherte) Auffassung, daß die Neubildung der Rindenzellen im subkapsulären Blastem (BACHMANN) erfolgt, daß die Zona glomerulosa die jüngsten Stadien der Rindenzellen aufweist, aus denen dann die Ordnung zu den Zellsäulen der Fasciculata erfolgt; in der Zona reticularis findet der Untergang der Nebennierenrindenzellen statt. Für diese Auffassung sprechen die Häufigkeit der Mitosen in der Glomerulosa, die relativ spärlichen Mitosen in der Fasciculata, das Vorkommen von Zellen mit Merkmalen der Nekrobiose in der Reticularis.

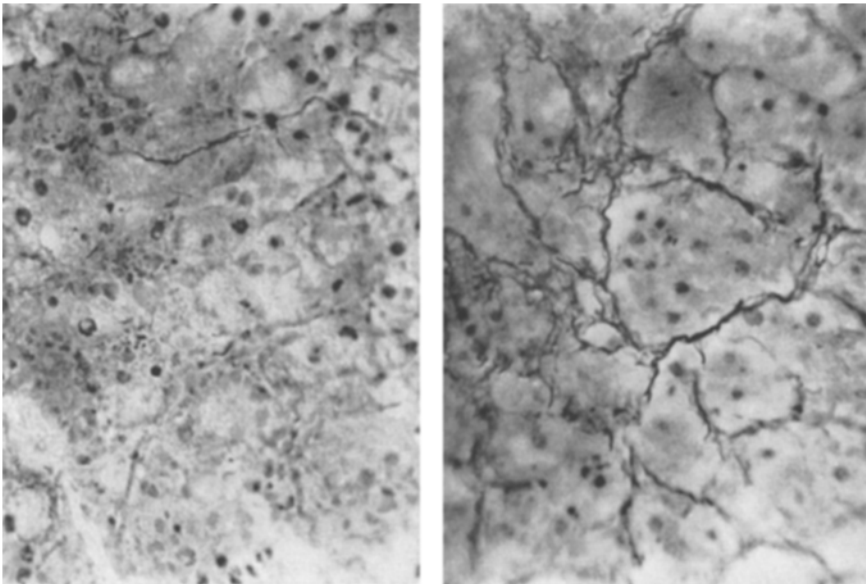


Abb. 3a u. b. Silberimprägnation nach GOMORI. Vergr. 200mal. a Gitterfasern (Kontrolltier). b Quellung der Gitterfasern (Tumortier).

Wenn man diese Überlegungen auf die Befunde bei Nebennieren an Walker-Carcinom-Ratten anwendet, so deutet das häufige Vorkommen von Zellen mit den gleichen degenerativen Veränderungen in der Zona reticularis mit verdichtetem, homogen anfärbbarem Cytoplasma und pyknotischen Kernen darauf hin, daß diese — grundsätzlich auch normal vorkommende — Form der Zellmauserung nur die Verstärkung eines physiologischen Geschehens ist, für dessen Verursachung gleiche, weitgehend unbekannte Faktoren wie in der Norm in Frage kommen. Der Unterschied gegenüber der Norm besteht lediglich in dem häufigeren Auftreten der Veränderungen und im gelegentlichen Vorhandensein ganzer Haufen von in gleicher Weise degenerativ veränderten Zellen. Vielleicht spielen auch gleichzeitig anzutreffende Hämorrhagien ätiologisch eine Rolle. Somit findet sich in der inneren Fasciculata eine

vollkommen andere Form des Zell- und Kernunterganges als in der äußeren.

Außer diesen Veränderungen am Parenchym sind unterschiedliche Wandlungen des Mesenchyms vorhanden. Während bei der Reticulumfaserdarstellung nach TBOR PAP und GOMORI in der normalen Nebenniere ein feines Maschenwerk hervortritt, sind diese Strukturen in der Nebenniere der Tumortiere deutlich vergrößert (Abb. 3). In fast allen Fällen findet man eine starke Hyperämie, die sog. sinusoidal dilatation (Abb. 4). Die ausgeweiteten Capillaren sind dicht ausgestopft mit Erythrocyten, die oft verklumpt sind. Häufig sind Erythrocyten außerhalb

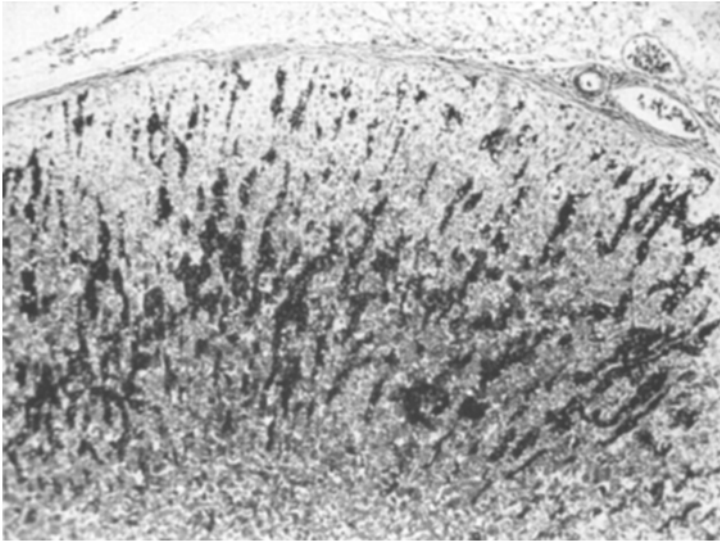


Abb. 4. Masson-Trichromfärbung (Modifikation nach GOLDNER). Vergr. 100mal. Hyperämie und Blutungen in der Nebennierenrinde (Tumortier).

der Gefäßbahn anzutreffen, an manchen Stellen kleine Blutungen, besonders in der Fasciculata und an der Markrindengrenze. Die Sinusendothelien sind stellenweise hochgradig geschwollen, die Interstitien verbreitert; die sonst strichförmige Begrenzung der Capillaren erscheint verdickt. Zwischen den Fasciculatazellsäulen liegen schlierig-fädige Massen, die sich im H.-E.-Präparat rötlich, bei der Fibrinfärbung zartblau und mit der van Gieson-Färbung blaßgelb anfärben. Nennenswerte Ablagerungen von eisenhaltigen Pigmenten wurden nicht beobachtet. Das Nebeneinanderbestehen dieser verschiedenartigen Veränderungen verleiht der Nebenniere ein buntes Aussehen.

Im Mark sind die Gefäße dilatiert und mit Erythrocyten so vollgestopft, daß die Konturen der einzelnen Blutkörperchen nicht mehr erkennbar sind. In einigen Fällen ist es zu einer sog. Nebennierenapoplexie gekommen, doch findet sich in den meisten Nebennieren nur eine mehr oder weniger ausgedehnte hämorrhagische Infarzierung der Marksubstanz. Das erhaltene Parenchym besteht aus Zellinseln. In diesen liegen die Zellen in alveolärer Anordnung. Jede Insel besteht meist nur aus einem bestimmten Zelltyp. Wir beobachteten 2 Typen. Der eine ist charakterisiert durch kleinere Zellen mit dunklen Kernen und reichlich feinen, dunkelbraunen Granula im Cytoplasma. Der andere Typ ist gekennzeichnet durch

größere, klar hellgraue Zellen, die offenbar sehr wasserreich sind. Gegenüber den Kontrolltieren finden sich im Cytoplasma dieser Zellen vermehrt fett- und glykogenfreie, kleinere und größere Vacuolen neben Coacervaten, die eiweißhaltig sind. Die Chromierbarkeit der Markzellen ist stark vermindert, fehlt oft völlig, während sich bei Tieren mit spontanem Tumorrückgang eine Zunahme der chromierbaren Substanz findet. Gegenüber der normalen Verteilung der hellen und dunklen Zellen ist es zu einer deutlichen Zunahme der dunklen Zellen gekommen.

Man hat die hellen und dunklen Zellen einerseits als zwei differente Zelltypen, andererseits als verschiedene Funktionszustände ein und derselben Zelle angesehen. BÄNDER konnte im Mark mit der ALTMANNschen Granulafärbung pikrinophile, helle Zellen und fuchsinophile, dunkle Zellen nachweisen. Den ersteren schreibt er die Bildung von Adrenalin, den letzteren von Arterenol zu. Wir glauben nicht, die in unseren Schnitten vermehrt gefundenen dunklen Zellen als Grundlage einer vermehrten Arterenolbildung ansprechen zu können, da an dem Gesamtbild aller Markzellen neben einer mehr oder weniger ausgedehnten Nekrose eine weitgehende Erschöpfung des Adrenalorgans abzulesen ist. Die vermehrte Zahl der dunklen Zellen scheint eher für einen Zellkollaps im Sinne von HELMKE zu sprechen.

Neben diesen am häufigsten gefundenen Veränderungen konnten in der ganzen Nebenniere von Tieren, deren Tumor große Nekrosen aufwies, Infiltrate gefunden werden, die stellenweise Knötchenform zeigen, an anderen Stellen schmalere und breitere Säume bilden. Zwischen ihnen sowie in ihrer Umgebung liegen in vielen Fällen Fettgewebszellen. Diese Infiltrate bestehen aus kleinen und großen Lymphocyten, Plasmazellen und segmentkernigen Leukocyten sowie histiocytären und megakaryocytenähnlichen Zellen. Ein Teil dieser Zellen gibt eine positive Peroxydase-reaktion. Nur selten haben die Infiltrate keine erkennbare Beziehung zu den Blutgefäßen. Häufig beobachtet man sie auch in Anlehnung an durch hydropische Degeneration zugrunde gegangenen Fasciculatazellen im äußeren Drittel der Zone. Die Zuordnung zu den Gefäßen kann über diese Beobachtung wegtäuschen. Verschiedentlich ist das Parenchym durch die Infiltrate nur an die Seite geschoben; diese Epithelien tragen keine Zeichen einer degenerativen Schädigung. An vielen Stellen schieben sie sich fingerförmig zwischen die Parenchymzellen und lösen einzelne Zellgruppen von der Nachbarschaft ab. Diese Zellverbände zeigen regressive Veränderungen, körnigen Zerfall und die auf diese Art freigewordenen extracellulär zwischen den Infiltratzellen in Form von größeren und kleineren Tropfen liegenden Fettsubstanzen werden zum Teil von den Elementen der Infiltratzellen aufgenommen.

Zusammenfassend ist über die Verteilung der Veränderungen in den einzelnen Zonen unter dem Einfluß des Tumors zu sagen, daß die stärksten Veränderungen die Zona fasciculata und das Mark betreffen, geringere die Zona reticularis. Die Zona glomerulosa erscheint am besten erhalten.

Besprechung der histologischen Befunde.

Im Vorangegangenen wurden beschrieben: eine Verbreiterung der Nebennierenrinde, vacuoläre Zellveränderungen, besonders in der äußeren Zona fasciculata, die bis zur Nekrose reichen können, eine Häufung

nekrobiotischer Zellveränderungen in der Zona reticularis; ferner eine Kapselverdickung der Nebenniere mit vielen jugendlichen Zellen an der Grenze zur Zona glomerulosa, verbreiterte Interstitien, vergrößerte Gitterfaserstrukturen, eine Quellung, manchmal auch Verdichtung und Verdickung, oft Unterbrechungen und Auflösungen, sowie kleine Lücken der Gefäßwände; weiter eine Schwellung der Gefäßendothelien, eine Ablagerung von fibrinpositiven, schlierig-fädigen Massen jenseits der Gefäßwand, Blutungen im Parenchym und eine Cytolyse, die die normale Struktur und die Genese der Strukturänderungen schwer erkennen lassen.

Bei einer Reihe von Tieren, insbesondere bei denen mit großen Tumoren, ausgedehnten Nekrosen des Tumors und langer Überlebensdauer (I. Serie) konnte außerdem das Auftreten von zelligen Infiltraten beobachtet werden, wie oben genauer beschrieben worden ist.

Die vacuolären, bis zur Nekrose reichenden Zellveränderungen sind namentlich auf Grund der später mitgeteilten histochemischen Befunde als Ausdruck der Erschöpfung der höchsten Aktivität zeigenden Nebennierenrindenzellen aufzufassen.

Es handelt sich um einen besonderen Typ der Nebennierenrindenschädigung, der durch eine „tubuläre Degeneration“ gekennzeichnet ist, indem die erst vereinzelt Zellnekrosen zu mehrere Zellen umfassenden Nekrosen zusammenfließen und zwischen erhaltenen oder weniger degenerativ veränderten Rindenzellsäumen „tubulusähnliche“ Hohlräume entstehen. Diese für die Nebennierenrinde typischen destruktiven Merkmale sind bei der Diphtherie, bei Meningo-, Pneumo- und Streptokokkeninfektionen, die mit *schwerem Kreislaufkollaps* einhergehen, beschrieben worden (RICH).

Die mesenchymalen Reaktionen sind ihrer Natur nach als entzündlich aufzufassen. Dabei könnte es sich bei den ohne wesentliche Zellulation einhergehenden Reaktionen um in den Formenkreis *seröser* Organentzündungen gehörige Vorgänge handeln. Sicher ist, daß es auch in unserem Fall an den Nebennieren der Tumortiere zu einem Ödem, zu einer Verdichtung und Verbreiterung der Gitterfaserstrukturen, zu einer „Dissoziation“ der Zellen und zu einer Epitheliolyse gekommen ist, wie sie von RÖSSLE am Beispiel der serösen Hepatitis bei der Thyreotoxikose, und seitdem bei den verschiedensten Erkrankungen der Leber, aber auch der endokrinen Drüsen beschrieben worden ist. Man kann sich vorstellen, daß die Nebennierenveränderungen unter dem Einfluß des Walker-Carcinoms auf eine schleichend verlaufende seröse Entzündung zurückgeführt werden können, worüber der eine von uns an anderer Stelle schon berichtete (SCHNEFFENHEIM). Auch EGER vergleicht nach Natriumentzug auftretende Veränderungen an Rattennebennieren mit der serösen Entzündung.

Bei der veränderten Beschaffenheit der Gefäßwände könnte auch die Hyaluronidase von Bedeutung sein, da bekannt ist, daß tierische Geschwülste Hyaluronidase enthalten (BOYLAND und McCLEAN). Dieses Enzym ist wie die Kollagenasen in der Lage, die Mucopolysaccharide der Grundsubstanz zu depolymerisieren und wasserlöslich zu machen. Im Blutserum von Tumorratten und -mäusen besteht ein erhöhter Gehalt an diesen Enzymen (CATCHPOLE).

Ausgeprägte zelluläre Reaktionen finden sich bei den lange überlebenden Tieren mit großen, nekrotischen, häufig ulcerierenden Tumoren. Das deutet darauf hin, daß die zelligen Infiltrate zeitlich den serös entzündlichen Veränderungen nachgeordnet sind. Es besteht deshalb auch kein Anlaß, in der Genese der Nebennierenveränderungen beim Transplantationstumor grundsätzlich zwischen den mit cellulären und den ohne cellulären Reaktionen einhergehenden Nebennierenveränderungen zu unterscheiden.

Wie aus der Literatur hervorgeht (COHN; DIETRICH und NORDMANN; HEINLEIN; MÜLLER; PAUNZ; THOMAS) scheinen die Rundzellherde in ursächlichem Zusammenhang mit Infektionen und septischen Prozessen zu stehen. Auch bei Transplantationstumoren sind sie an Ratten- und Mäusenebnieren beschrieben (BALL und SAMUELS; BEGG; DALTON und PETERS; DIES, MITCHELL und JONES; LEWIS; SELYE und STONE). Über die Ätiologie dieser Infiltrate bestehen unterschiedliche Auffassungen.

Schon nach einer einmaligen Injektion von nekrotischem Tumorbrei traten bei einigen Tieren der Serie 3 Gefäßwandstörungen, Schwellung der Gefäßwandendothelien und geringe histiocytäre Reaktionen auf. Bei den meisten Tieren waren die Reaktionen schwach oder zum Zeitpunkt der Untersuchung schon wieder abgeklungen. Mehrmalige Injektionen nekrotischen Tumorbreies, der ja zur Hauptsache aus hochmolekularem Eiweiß und dessen Spaltprodukten besteht, rufen eine andere Wirkung hervor, wie auch aus den Arbeiten von McEwen und SELYE, McEwen und KROPP bekannt ist. Diese besteht darin, daß die exsudativen Vorgänge verstärkt sind und histiocytäre Proliferationen neben ausgedehnter Histio- und Cytolyse auftreten, wie wir sie an den Nebennieren der Walker-Carcinom-Ratten kennelernt haben. SELYE sprach sich in früheren Arbeiten für die Möglichkeit aus, daß die Infiltrate Ausdruck einer Sepsis bei mischinfiziertem Tumor seien, eine Auffassung, die SELYE und STONE in neuerer Zeit aufgegeben haben zugunsten der Vorstellung, daß unter dem Einfluß des Transplantationstumors in der Nebenniere blutbildendes Knochenmark entsteht. Ungereinigte Hypophysenvorderlappenextrakte, die reichlich corticotropes Hormon enthielten, verursachen nach SELYE und STONE deutliche Hämatopoese in der Nebennierenrinde, während mit gereinigten Vorderlappenextrakten dieser Befund nicht zu erzielen war. Beim wachsenden Transplantationstumor sollen die Nekrosen des Tumors bzw. die dabei freiwerdenden giftigen Substanzen die Bildungsprodukte des Hypophysenvorderlappens so modifizieren, daß durch sie neben der Größenzunahme der Nebenniere eine Hämatopoese ausgelöst wird.

Wir konnten keine hämatopoetischen Knochenmarksbildungen in der Nebenniere nachweisen. Vorstufen der Erythrocyten fehlten vollständig, während die myeloischen Vorstufen hinter dem Befund der rundzelligen und histiocytären Formen zurücktraten. Auch PAUNZ konnte in seiner ausführlichen Arbeit über die Rundzellherde in der Nebenniere kein einziges Mal Erythroblasten nachweisen.

Ein Vergleich unserer Befunde mit geweblichen Äußerungen allergischer Vorgänge scheint uns erlaubt. Durch die Untersuchungen von SIEGMUND, DIETRICH, HOMUTH und KLINGE kennen wir die Veränderungen nach wiederholter Einverleibung des gleichen Stoffes entfernt vom Einverleibungsort. Wie KUCZINSKI an Maus und Ratte nach Eiweißfütterung und EPSTEIN und PENTIMALLI an mit Pferdeserum sensibilisierten Kaninchen, fand auch VAUBEL in gleichartigen Versuchen am Kaninchen neben Herzmuskelnekrosen und Histiocytenwucherungen in der Leber eine starke Hyperämie mit Vermehrung der KUPFFERSchen Sternzellen und der Blutmonocyten. In der Milz sah er eine Vergrößerung der Keimzentren und eine große Zahl von Lymphknötchen. Von allgemeinen Wirkungen sei angeführt, daß nach länger fortgeführter Injektion von Serum, aber auch anderer Eiweißkörper, die Versuchstiere in einen immer mehr zunehmenden Schwächezustand fallen und schließlich zugrunde gehen (DOLD). Hingewiesen wird auf örtliche Kreislaufstörungen, die bei sensibilisierenden Eingriffen zuerst gesehen wurden (DIETRICH und NORDMANN; FRÖHLICH; GEISSENDÖRFER; KALBFLEISCH).

Wenn diese Arbeit auf eine ausführliche Darstellung der histologischen Befunde an den Körperorganen verzichtet, sei doch in Kürze darauf hingewiesen, daß in Serie 1 und 2 eine stark vergrößerte Milz mit Vermehrung der Reticulumzellen und der Zahl der Keimzentren, am Herzmuskel kleinste Nekrosen und geringe histiocytäre Reaktionen, an der Leber eine Sternzellhyperplasie und in einigen Fällen zentrale Läppchennekrosen sowie eine vorwiegend aus histiocytären Elementen bestehende Knötchenbildung gefunden wurden. Im Tierexperiment konnten LETTERER, HEINLEIN und MUSCHALLIK mit arteigenem und körpereigenem Eiweiß den Organismus sensibilisieren und morphologische Befunde erzielen.

Auch aus der menschlichen Tumorpathologie sind Beispiele bekannt, die bei der Deutung bestimmter morphologischer Befunde an allergische Zustände denken lassen. WÄTJEN ist der Meinung, daß bei der Entstehung der zentroacinären Leberläppchennekrosen toxische, im Organismus selbst entstehende Stoffe unter bestimmten Bedingungen wirksam werden. Er denkt an Stoffe verschiedener Herkunft, wie sie beim Eiweißzerfall auftreten. Die Leberläppchennekrosen sah er besonders häufig bei Carcinomen, die zum Zerfall neigten. Dabei ist für die Mehrzahl der Fälle die ursächliche Mitwirkung einer Kreislaufstörung bei hinzutretenden toxischen Stoffen anzunehmen, die auch am leichtesten das Zentrum der Läppchen als Ort der Wahl für die Nekrosen verständlich macht. Schon früher hat THOMAS darauf hingewiesen, daß in der Ätiologie der Nebennierenrindeninfiltrate neben Stoffen bakterieller Herkunft auch solche autotoxischer Natur eine Rolle spielen. PAUNZ sieht als besonders beweisend die Fälle an, in welchen überhaupt keine Spuren bakterieller Tätigkeit im Körper nachweisbar waren, wie bei Tumoren, Fällen von Lebereirrhose und Arteriosklerose mit Erweichungsherden und Hämorrhagien im Gehirn. Die allergische Reaktion könnte beim Tumorwachstum durch Zerfall und parenterale Resorption von körpereigenem Eiweiß ausgelöst werden. Damit stehen in Einklang die schon länger zurückliegenden Tierversuche von COHN, der durch fortgesetzte Adrenalininjektionen außer Mediaverkalkungen von Arterien anämische Herzmuskelnekrosen erzeugte und dabei Infiltrate in den Nebennieren fand; weiter die Befunde von GOLDZIEHER, der durch subcutane Einspritzung von Nierenbrei Nebenniereninfiltrate hervorrief. Bei der im Verlauf der Dystrophie und Carcinomkachexie beschriebenen interstitiellen Myocarditis spricht JAFFÉ von einer Autoallergie, einer Allergie gegen abgebaute körpereigene Substanz.

Wenn nur ungereinigte Extrakte aus dem Hypophysenvorderlappen Infiltrate in der Nebenniere zu erzeugen vermochten (SELYE und STONE), dann sind es nach dem Vorhergesagten augenscheinlich die bei wiederholter Injektion sensibilisierend wirkenden Eiweißkörper, die als Ursache der Infiltrate anzusprechen sind.

Bei den um hydropisch degenerierende Zellverbände in der Rinde liegenden knötchen- und mantelförmigen Infiltraten mögen reaktive und resorptive Prozesse von Bedeutung sein.

Die Quellung der Bindegewebsfasern ist nicht als morphologisches Substrat allergischer Reaktionen anzusehen. Nach RÖSSLE, GERLACH, KLINGE u. A. gibt es zwischen einer gewöhnlichen unspezifischen und einer hyperergischen Entzündung keine grundsätzlichen, sondern nur Gradunterschiede.

Für diese Auffassung spricht ein Vergleich der Serien 1 und 2. In der Serie 1 ist die durchschnittliche Überlebensdauer der Tiere nach der Transplantation wesentlich länger als in der Serie 2. Außerdem ist aus der Tabelle¹ ersichtlich, daß die Tumoren und das Ausmaß der Nekrose in Serie 1 größer als in Serie 2 sind, damit auch die Menge der toxisch wirkenden Eiweißspaltprodukte vermehrt ist. Die Quellung der Bindegewebelemente ist dem entsprechend stärker in Serie 1 als bei Serie 2 und 3 ausgebildet.

Wenn zusammenfassend die histologischen Veränderungen an den Nebennieren unserer Versuchstiere betrachtet werden, so findet man nebeneinander Befunde, die ihrer Ätiologie nach auf epithelio- und endotheliotoxisch wirkende Gifte zurückgeführt werden müssen. Die in der äußeren Zona fasciculata bestehende hydropische Zelldegeneration verdankt ihre Entstehung einem komplexen Mechanismus. Dabei treffen toxisch wirkende Eiweißzerfallsprodukte auf hochdifferenzierte, ihrem morphologischen Aussehen nach erschöpfte Zellen, wobei im Anfang der Nekrobiose bzw. Nekrose die in gleicher Weise toxisch bedingte Gefäßwandschädigung und damit Durchblutungsstörung steht. Bei der Entwicklung der übrigen teilweise erheblichen entzündlichen Veränderungen scheinen nach unseren Untersuchungen allergisch-hyperergische Reaktionen eine Rolle zu spielen, wenn auch neben der Wirkung von parenteral resorbierten Eiweißzerfallsprodukten des Tumors der Einfluß bakterieller Toxine durch Mischinfektion des Walker-Carcinoms nicht völlig auszuschließen ist.

Histochemische Befunde.

Bei den Tieren, die innerhalb der ersten 10 Tage nach der Transplantation gestorben sind, ist die Entlipoidisierung der Nebennierenrinde weit stärker ausgebildet als bei den nach 20–30 Tagen getöteten Tieren. Es kommt nicht nur zu einem fast vollkommenen Schwinden der Sudanophilie, der doppeltbrechenden Substanzen, des Plasmals, zu einer Abnahme der Carbonsylipoide, sondern auch zu „Umwälzungen im Aufbau des Gewebes“ und der „Struktur der Zelle“ (DIETRICH). Bei den Ratten mit vermindertem Lipoidgehalt sind die Tropfen deutlich aufgesplittert. Stellenweise ist das Lipoid nur noch in Zellinseln abgelagert (Abb. 5). Die Nebennieren, in denen färbereich Lipoid nicht nachweisbar war, ließen auch im Polarisationsmikroskop keine anisotropen Substanzen erkennen. Das bei den

¹ Tabelle kann von den Verfassern angefordert werden.

Kontrolltieren aufleuchtende breite, glänzende Band ist verschwunden. Bei den länger überlebenden Tieren finden sich Fett und Lipoid in wechselnder Menge. In der Glomerulosa konnten bei fast allen Tumortieren mit Nilblausulfat intensiv blau tingierte, mit Sudan III leuchtend rot gefärbte, als kleine Kugeln imponierende Neutralfette in unterschiedlicher Menge nachgewiesen werden. Die beim Kontrolltier ausgebildete sudanophobe Zone ist bei diesen Tieren verwischt, nur vereinzelt noch andeutungsweise vorhanden. Die intracellulär gelegenen, in Form feiner oder grober Tropfen darstellbaren Fettsubstanzen der Tumortiere zeigen auch in der Farbintensität charakteristische Unterschiede. Stellenweise sind im

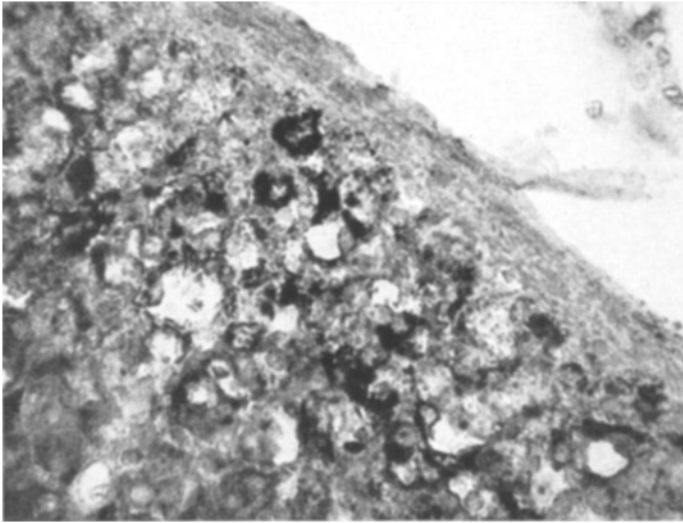


Abb. 5. Nilblausulfat-Färbung. Vergr. 440mal. Großtropfige Neutralfettablagerung in der Zona glomerulosa bei einem lange überlebenden Tumortier.

Zwischengewebe Körnchenzellen, sowie eine Verfettung der Capillarwände nachweisbar.

Bei den Versuchstieren der Serie I mit stark nekrotischem Tumor erscheint die Glomerulosa schon bei Lupenvergrößerung als ein die inneren Zonen umgebender, schmaler, sudanroter Saum, der nur kleine Ausläufer in die äußere Fasciculata sendet, während die mittlere und innere Fasciculata bis zur Reticularis keine Sudanophilie mehr aufweisen. Große sudanrot und sudanschwarz angefärbte Kugeln und feinste gelblichrote Tröpfchen verdrängen die Kerne an die Zellperipherie. Bei den wenigen Ratten, die einen Spontanrückgang des Tumors zeigten, fanden wir eine ausgesprochene Zunahme der Fett- und Lipoidsubstanzen. Die roten Fasciculatazellstraßen verlaufen in einem gleichmäßig starken Farbton von der Kapsel zur inneren Fasciculata, um dann an der Fasciculata-Reticularisgrenze schwächer zu werden. Gleichzeitig ist eine Zunahme der anisotropen Substanzen, der Carbonsylipide und des Plasmals zu beobachten. Doppelbrechung und Carbonsylipide waren bei den Tieren mit Spontanrückgang wieder früher nachweisbar als Plasmal und sudanophile Substanzen.

Wenn es sich um fortgeschrittene bösartige Geschwülste handelt, glauben AYRES, FIRMINGER und HAMILTON, daß Nekrosen bei der Entlipoidisierung der Nebennierenrinde eine Rolle spielen. DALTON ist der Auffassung, daß Ausdehnung der Nekrose und Lipoidverarmung einander proportional gehen. Dem möchten

wir jedoch keine größere Bedeutung beimessen, da der Lipoidgehalt in unseren Fällen bei kleineren und größeren Tumornekrosen unterschiedlich war.

Bei den Versuchstieren der Serie 2 ist der leuchtend rote Glomerulosasaum in einzelne Inseln zerfallen. Hier finden sich dann auch bei der Polarisationsmikroskopie die kleinen charakteristischen Kreuze. In allen Fällen zeigt die Zona reticularis ein wechselndes Verhalten.

Die Injektion von sterilem, nekrotischem Tumorgewebe bei den Tieren der Serie 3 bewirkt ebenso eine Abnahme der Sudanophilie. Diese Abnahme ist in ihrem Ausmaß ungleich schwächer, in ihrer Stärke mit der bei den Tumortieren auftretenden Entspeicherung nicht zu vergleichen. Die mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin behandelten Schnitte zeigen eine verminderte Anfärbbarkeit. In den Nebennieren mit nekrobiotischen und nekrotischen Veränderungen der Fasciculata finden sich in deren Umgebung sog. „Fettkörnchenzellen“, die wir mit HUECK als Ausdruck einer „resorptiven“ Verfettung deuten. So waren in Bindegewebszellen und in der Wandung venöser Gefäße cholesterinhaltige Lipide gespeichert.

Besprechung der histochemischen Befunde.

Eine Stellungnahme zu den angewandten histochemischen Reaktionen ist schon in der Methodenkritik erfolgt.

Eine Rindenentspeicherung der Nebennieren wird beobachtet nach traumatischem, orthostatischem und dem Histaminkollaps (BEIGLBÖCK), bei akutem Sauerstoffmangel und Kohlenoxydvergiftung, bei Tetanus und akuter Katatonie, bei akuten Infektionskrankheiten (ABRAMOW und SADOWNIKOW, DIETRICH; LIEBEGOTT; SADOWNIKOW; SCHNEPPENHEIM; TONUTTI), nach Verbrennung und allgemeiner Unterkühlung, nach erhöhter Muskelarbeit (VERSAR), bei Störungen im Salz- und Wasserhaushalt, nach Thyroxinzufuhr infolge allgemeiner Stoffwechselsteigerung (DEANE und GREEP) und bei Alloxanvergiftung.

In Übereinstimmung mit anderen Untersuchern ist in allen Nebennieren unserer Walker-Carcinom-Ratten eine Abnahme der Sudanophilie, der doppeltbrechenden Substanzen, des Plasmals und der Carbonyllipide festzustellen. Bei Ratten mit einem „virulenten“ Tumor fallen die Gesamtsteroidgehalte der Nebenniere schätzungsweise auf weniger als ein Drittel des Normalgehaltes ab. Dem entspricht eine Abnahme der gewöhnlichen Fettsäuren.

Nach der Ansicht amerikanischer Untersucher (BLOOR, HAVEN und ASHWORTH; MIDER, SHERMAN und MORTON) ist diese Abnahme direkt proportional der Größenzunahme des Tumors. Nach unseren Beobachtungen scheint das Ausmaß der Entlipoidisierung von der „Virulenz“ des Tumors und in zweiter Linie von seiner Größe abhängig zu sein. Bei kleinen, jedoch hochvirulenten Tumoren ist sie am ausgeprägtesten. Wir sahen bei weniger „virulenten“, großen Tumoren häufig eine weniger hochgradige Entlipoidisierung, die Fettsäuren konnten sogar vermehrt sein.

Nach anfänglich erhöhter Abgabe findet nach einer gewissen Zeitspanne wieder eine allmähliche Zunahme der Lipide und der Neutralfette statt. Das konnte deutlich bei langsam wachsenden Tumoren

beobachtet und kann mit einer vermehrten Bildung von Cholesterin zur Steigerung der Abwehrleistung erklärt werden, worauf LEUPOLD und BOGENDÖRFER in tierexperimentellen Untersuchungen schon früher hingewiesen haben. Bei einigen Ratten wurden neben reichlichem Fettgehalt der Glomerulosa mit Neutralfett beladene Zellstraßen in der Zona fasciculata gefunden. In diesen Fällen möchten wir eine Größenzunahme der Nebenniere durch vermehrte Lipoidspeicherung annehmen. Andererseits kann man bei Lipoidarmut eine verkleinerte Drüse erwarten. Aber auch in diesen Fällen kommt es zu einer Organvergrößerung, wie die histometrischen Ergebnisse zeigen.

Die ursprüngliche Anschauung, daß Veränderungen im Lipoidgehalt der Nebennieren vom Gesamtlipoidgehalt des Körpers abhängen, wurde neuerdings von der Erkenntnis verdrängt, daß Lipoidgehaltsschwankungen der morphologische Ausdruck der Rindenfunktion sind. Diese Anschauung wird gestützt durch die Untersuchungen von SRERE, CHAIKOFF und DAUBEN, die eine Cholesterinsynthese in der Nebennierenrinde nachgewiesen haben. Sieht man in Cholesterin und den Cholesterinestern die Vorstufen der Rindenhormone (FIESER; HECHTER, ZAFFARONI, JAKOBSEN, LEWY, JEANLOZ, SCHENKER und PINKUS; ZAFFARONI, HECHTER und PINKUS), so kann man den Verlust dieser Substanzen durch Verbrauch bei der Biosynthese von Steroiden erklären (SAYERS und SAYERS; YOFFEY und BAXTER; ZWEMER).

Histometrische Befunde.

In unserer hier nicht wiedergegebenen Tabelle sind die Nebennierengewichte der Normal- und Tumortiere (Ratten) gegenübergestellt; die formolfixierten sind schwerer als die susa-pikrin-säure fixierten Nebennieren. Dieser gewichtsmäßige Unterschied beruht auf dem durch die Fixierung und Weiterbehandlung mit 70%igem Alkohol hervorgerufenen Wasserentzug. Hierbei ist der normalerweise auch bei der Ratte bestehende geringfügige Unterschied zwischen rechter und linker Nebenniere nicht berücksichtigt. (Die in der Tabelle nicht aufgeführten Nebennieren wurden nach WIESEL chromiert.)

Beim Vergleich der Nebennierengewichte von Normal- und Tumortieren wurden die relativen, d. h. auf 1 g Körpergewicht bezogenen Organgewichte zugrunde gelegt, da das Organgewicht vom Körpergewicht abhängig ist.

Die planimetrische Auswertung an Serienschnitten ergab, daß die Rinde bei den Nebennieren der Serie 2 im Durchschnitt um das 3,7fache und das Mark um das 2,3fache vergrößert ist. Die größere Wachstumszunahme weist also die Rinde auf. Gegenüber der Markrindenrelation von 9,35% zu 90,65% der Normaltiere beträgt die Markrindenrelation bei den Tumortieren 5,96% zu 94,04% (Abb. 6).

Die Auszählung der Fasciculatazellkerne in bestimmten Meßquadraten, die errechnete Gesamtzahl der Kerne, das Einzelkernvolumen und das Gesamtvolumen der Zellkerne erlauben Aussagen, ob die Nebennierenvergrößerung durch Hypertrophie oder Hyperplasie zustande kommt.

Die Prozentzahl der geschnittenen Kerndichte (Gesamtkernfläche) wird im Meßquadrat bestimmt. Nimmt man an, daß die Prozentzahl (a) auch für das

Kernvolumen gilt — siehe Methodenkritik — und daß das Meßquadrat für das betrachtete Objekt charakteristisch ist, erhält man die Gesamtzahl als Quotient

$$\frac{a \cdot \text{Organvolumen}}{\text{Mittleres Kernvolumen}}$$

In Serie 1 beträgt der Kerndurchmesser in der äußeren Zona fasciculata $9,87 \mu$ (i. D.) gegenüber $6,62 \mu$ (i. D.) bei den Kontrolltieren. Das Summenvolumen von 200 Kernen ist $100690 \mu^3$ gegenüber $30384 \mu^3$ bei den Kontrollen. Die Zellzahl im Meßquadrat der Tumortiere ist 812 gegenüber 1611 bei den Kontrollen (Abb. 6).

Bei den Kontrollen zur Serie 2 beträgt die durchschnittliche Zahl der Kerne im Meßquadrat 1628 bei einem durchschnittlichen Kerndurchmesser von $6,4 \mu$

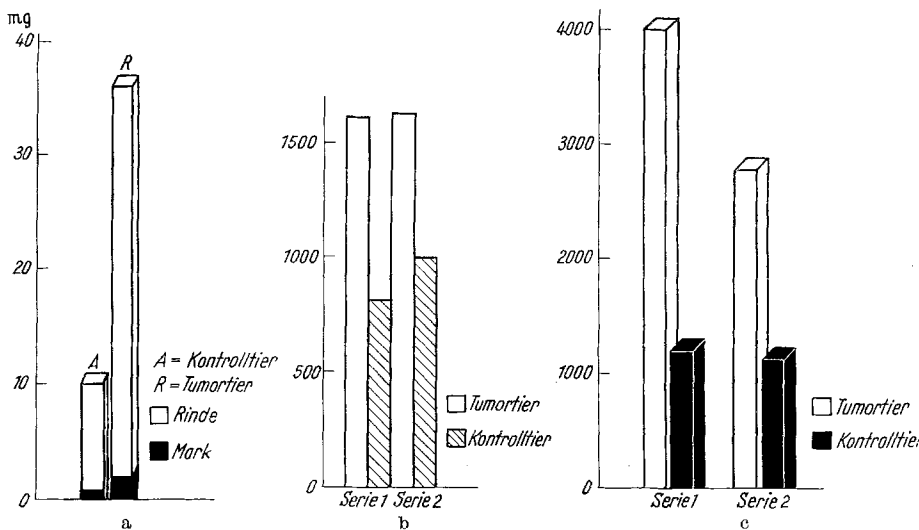


Abb. 6 a—c. a) Marken-Rinden-Relation bei einem Tumor- und Kontrolltier.
b) Durchschnittskernzahl von Tumor- und Kontrolltier.
c) Durchschnittskernvolumen von Tumor- und Kontrolltier der Serie 1 und 2.

und bei den Tumortieren 990 bzw. $8,47 \mu$. Dementsprechend ist das Summenvolumen bei den Kontrollen $27481 \mu^3$ gegenüber $63150 \mu^3$ bei den Tumortieren (Abb. 6).

Das durchschnittliche Kernvolumen der Fasciculatazellen in Serie 2 übersteigt den Durchschnittswert der Kontrolltiere ungefähr um das Zweieinhalbfache, in der Serie 1 annähernd um das Dreieinhalbfache. Die Zellkernvolumina in Serie 1 übertreffen die in Serie 2 etwa um das Eineinhalbfache.

Besprechung der histometrischen Befunde.

Bei den Tumortieren hat die Kerndichte in der Zona fasciculata in allen Fällen erheblich abgenommen. Dabei sind die vermehrte Blutfüllung, die Schwellung der Gefäßendothelien, Infiltrate und eine Wassereinlagerung von Bedeutung. Aus den Messungen der Fasciculatazellkern-durchmesser geht jedoch klar hervor, daß das Volumen der Kerne beträchtlich zugenommen hat. Auch dadurch ist die Abnahme der Kerndichte bedingt. Aus der Bestimmung der Zahl der Kerne in einzelnen

Meßquadraten und der errechneten Gesamtzahl der Rindenkerne bei Kontroll- und Tumortieren geht unter Berücksichtigung der Zunahme des Einzelkernvolumens hervor, daß die Gesamtzahl der Zellen in der Nebennierenrinde erheblich vermehrt ist.

Auf eine kurvenmäßige Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gefundenen Kernvolumina und auf weitergehende Schlußfolgerungen aus den verschiedenen Verlaufsformen der Kurven (KRACHT; TONUTTI) wird verzichtet, da die bei der Messung von Kerngrößen in histologischen Schnitten auftretende Verteilungskurve der scheinbaren Kerngrößen eine ausschließliche Funktion der wahren Kerngrößen d. h. des größten überhaupt auftretenden Kerndurchmessers ist, also im wesentlichen den rechten Schnittpunkt mit der μ^3 -Achse darstellt. Dementsprechend ist auch die „Rechtsverschiebung“ des Maximums der Kurve nicht ein Vorgang, dem reale Bedeutung zukommt, sondern lediglich eine einfache mathematische Folge der Vergrößerung des wahren Kerndurchmessers, die schon durch den Schnittpunkt der Kurve charakterisiert ist. Auch der Inhalt der Kurve hängt ausschließlich von der Anzahl der ausgezählten Kerne ab, ist also in unserem Fall konstant.

In neuerer Zeit sind in der Nebennierenliteratur die Begriffe „progressive“ und „regressive Transformation“ eingeführt worden (BARGMANN; TONUTTI). Man glaubt dadurch die Änderungen der Funktion besser zu kennzeichnen, als es die allgemeopathologischen Begriffe der Hypertrophie und Atrophie nach der Ansicht dieser Autoren vermögen (vgl. dazu die Diskussionsbemerkung von BÜCHNER, Dtsch. Path.-Tagg. 1952).

Neben den histometrischen weisen besonders auch die histologischen und histochemischen Untersuchungsergebnisse darauf hin, daß es zunächst als Anpassung an das Tumorstadium zu einer gesteigerten Leistung kommt. Diese Leistungssteigerung ist an der Form des Organs ablesbar. Da die Leistung eines Organs weitgehend von dessen Form (im weitesten Sinne) abhängig ist (CREUTZFELD, HUSTEN und HAGER), charakterisieren die Begriffe Hypertrophie und Hyperplasie ausgezeichnet Veränderungen, die die Nebenniere unter dem Tumorstadium erfährt.

Bei der Untersuchung des Nebennierenmarks beschränkten wir uns auf histologische und histochemische Untersuchungsmethoden. Zur Frage der Größenzunahme des Marks durch Hypertrophie bzw. Hyperplasie soll hier nicht Stellung genommen werden. Doch scheint die Größenzunahme nicht mit einer Vergrößerung der Kerne einherzugehen, sondern durch vermehrten Blut- und Wassergehalt, weniger durch Infiltrate bedingt zu sein.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Vergrößerung der Nebennierenrinde unter dem Einfluß des Transplantationstumors auf einer Hypertrophie und einer Hyperplasie beruht.

Diskussion.

Die beschriebenen Nebennierenveränderungen beim Walker-Carcinom, die Hypertrophie und Hyperplasie, hydropische, nekrobiotische und

nekrotische Zellveränderungen, Hyperämie, Zellinfiltrate und Faserquellung bzw. -vermehrung sind zu heterogen, als daß sie ohne weiteres auf *eine* Ursache zurückgeführt werden können. Auf eine weitergehende Erörterung der Befunde an den Körperorganen soll verzichtet werden.

Es ist darauf hingewiesen worden, daß die Gesamtwertung der Rinden- und Markbilder eine Steigerung der Aktivität bis zur Erschöpfung ergibt. In diesem Sinne muß in Übereinstimmung mit anderen Untersuchern (DILLER, BLANCH und BECK; McEWEN und KROPP; HAVEN, BLOOR und RANDALL; HOWARD, BALL und SAMUELS), die am gleichen Untersuchungsgut und bei gleichen Versuchsbedingungen festgestellte Gewichts- und Größenzunahme der Nebenniere aufgefaßt werden. Bei den Tieren der Serie 1 mit Tumoren von durchschnittlich 38,4 g Gewicht und einer durchschnittlichen Überlebensdauer der Versuchstiere von 21 Tagen nach der Transplantation, sowie einer 4fachen Gewichtszunahme gegenüber den Kontrolltieren, war sie am stärksten. Bei den Tieren der Serie 2 mit einem Durchschnittstumorgewicht von 16,3 g und einer Überlebensdauer von 14 Tagen übertraf das Gewicht der Nebennieren das der Normaltiere um das 1,7fache. In der Serie 3, in der den Ratten steriler nekrotischer Tumorbrei injiziert wurde, war eine Gewichtszunahme der Nebennieren kaum vorhanden.

Ein Vergleich der Serien untereinander zeigt eindrucksvoll, daß das Nebennierengewicht um so größer ist, je länger die Versuchstiere überleben. Diese Zeitabhängigkeit gilt jedoch nicht ohne Einschränkung, da in hier nicht verwerteten Versuchen gefunden wurde, daß die Größenzunahme der Drüse sistiert oder gar rückläufig wird, wenn der Tumor sich zurückbildet. Man muß also annehmen, daß, solange der Tumor wächst, ein Reiz permanent wirkt und zu maximaler Vergrößerung führt je länger er anhält.

An Hand der planimetrischen Untersuchungen läßt sich zeigen, daß sowohl Rinde als auch Mark größer als normal sind. Die Zunahme der Rinde ist aber beträchtlich stärker als die des Markes. Die normale Mark-Rindenrelation ist zugunsten der Rinde verschoben. Auf Grund der histometrischen Untersuchungen ergibt sich, daß der Vergrößerung eine Volumenzunahme der einzelnen Elementarteile und eine Vermehrung der Zahl derselben zugrunde liegt.

Inwieweit die Vergrößerung der Nebenniere durch gesteigerte Flüssigkeitsaufnahme des gesamten Gewebes, insbesondere einer Vermehrung der im Interstitium liegenden Flüssigkeit, durch vermehrte Blutfüllung, durch Zunahme der Fett- und Lipoidsubstanzen und durch Infiltrate verursacht wird, läßt sich nur schätzungsweise angeben. Eine Volumenzunahme durch vermehrte Wassereinlagerung ist von amerikanischen Autoren nachgewiesen worden (DILLER, BLANCH und BECK; HOWARD,

BALL und SAMUELS). Aus ihren Angaben geht jedoch nicht hervor, in welcher Form die Flüssigkeit vorliegt, ob es eine Zunahme des Blutes bei gesteigerter Durchblutung ist, ob die Flüssigkeit intraepithelial (Zellhydrops) oder im Interstitium (Ödem) liegt. Nach unseren Ergebnissen liegt vor allem in der äußeren Fasciculata ein sog. Zellhydrops, vacuoläre Degeneration, Hyperämie und außerdem ein extracelluläres Ödem vor. Die Größenzunahme der Zellen ist in allen Zonen der Nebennierenrinde nachweisbar, wobei die übliche zonale Einteilung der Rinde schwer erkennbar wird. Die Hyperämie stellt die Voraussetzung dafür dar, daß überhaupt die Vermehrung einer Substanz zustande kommen kann. Bei der Änderung der Relation Abbau zu Anbau braucht es sich keineswegs um eine Minderung des Abbaues zu handeln. Es wäre für den hier diskutierten Fall zu folgern, daß beide Größen zugenommen haben, insbesondere der Anbau.

Die Organvergrößerung der Nebenniere ist kein spezifisches Merkmal des Carcinoms. So zeigt ein Vergleich mit anderen Zuständen, bei denen sie beschrieben worden ist, daß als erste Voraussetzung Inkrete des Hypophysenvorderlappens notwendig sind. INGLE konnte nach wiederholter Injektion von ACTH an der Ratte Nebennierengewichte bis 280 mg erzielen. Die fast immer mit einer Vergrößerung des Organs einhergehende funktionelle Mehrleistung findet man in zahlreichen Fällen. Sie bleibt aus, wenn die Hypophyse entfernt wird. So konnten McEVEN und THOMSEN zeigen, daß bei hypophysektomierten Tumorratten keine Größenzunahme der Nebenniere auftritt. Das läßt den Schluß zu, daß auch beim Walker-Carcinom der Reaktionsweg über die Hypophyse verläuft und Hypertrophie und Hyperplasie durch das funktionssteigernde Prinzip der glandotropen Inkrete des Hypophysenvorderlappens zustande kommen.

Durch fortlaufende Belastung der Nebenniere kommt es, wie an Hand zahlreicher von vielen Untersuchern durchgeführter Experimente gezeigt werden konnte, im Endzustand zu einer Erschöpfung. Bei den unterschiedlichen Ergebnissen der einzelnen Autoren handelt es sich nur um quantitative Abweichungen. Die bei unseren Versuchstieren aufgefundenen Nebennierenveränderungen zeigen in den einzelnen Serien gradweise Unterschiede. Ein Vergleich unserer Ergebnisse mit anderen in der Literatur niedergelegten Erfahrungen zeigt ebenfalls, daß die Nebenniere auf die verschiedensten Reize in gleicher, nur quantitativ unterschiedlicher Weise reagiert.

Es gibt keine besonderen morphologischen Befunde an der Nebenniere unter dem Einfluß bösartiger Geschwülste. Jedoch weisen die vorliegenden Beobachtungen in manchen Punkten auf eine besondere Ätiologie der Veränderungen. Dabei steht die Wirkung parenteral resorbierter toxischer Eiweißkörper im Vordergrund.

Zusammenfassung.

Nach Transplantation eines Walker-Carcinoms bei Ratten kommt es zu einer Vergrößerung der Nebenniere, die um so erheblicher ist, je länger die Tiere die Transplantation überleben.

An dieser Vergrößerung der Nebenniere sind Rinde und Mark beteiligt, im besonderen Maße jedoch die Rinde. Sie kommt zustande durch eine Verbreiterung des äußeren und mittleren Drittels der Zona fasciculata. Es wird durch histometrische Untersuchungen festgestellt, daß eine Volumenzunahme der Einzelzelle *und* eine Vermehrung der Zahl der Zellen vorliegt. In den gleichen Abschnitten der Nebenniere werden neben einer Lipoidverarmung (Abnahme der Sudanophilie, der doppeltbrechenden Substanzen sowie der Carbonsäurelipide) vacuoläre Zellveränderungen beschrieben, die bis zum Zelltod reichen. Diese Veränderungen werden mit der erhöhten Aktivität der Nebenniere in Zusammenhang gebracht und teilweise als Zeichen der Erschöpfung gedeutet.

Daneben werden in der Rinde Hyperämie, Infiltrate und eine Vermehrung des Bindegewebes beobachtet. Die Genese dieser Veränderungen wird besprochen.

Am Nebennierenmark finden sich neben Zellveränderungen, die als Zeichen erhöhter Aktivität aufgefaßt werden, Merkmale der Erschöpfung. Ferner werden Hyperämie, Hämorrhagien und Nekrosen gefunden.

Der Zusammenhang der beschriebenen Veränderungen beim Transplantationstumor mit der Funktion der Hypophyse wird erörtert.

Literatur.

- ABRAMOW, S., u. W. SADOWNIKOW: Virchows Arch. **313**, 210 (1944). — ALBERT, S., and C. P. LEBLOND: J. of Anat. **83**, 83 (1949). — ALBERTINI, A. v.: Verh. dtsh. path. Ges. **35**, 54 (1951). — ALTMANN, H. W.: Frankf. Z. Path. **60**, 363 (1949). — ALTMANN, H. W., u. H. SCHUBOTHE: Beitr. path. Anat. **107**, 3 (1942). — ASHBELL, R., u. H. M. SELIGMAN: Endocrinology **44**, 565 (1949). — FASS, H., u. K. STOKLOSSA: Klin. Wschr. **1952**, 422. — AYRES, W. W., H. FIRMINER and P. K. HAMILTON: Mil. Surgeon **1951**, 503. — BACHMANN, R.: Verh. dtsh. Ges. Path. **36**, 68 (1952). — BÄNDER, A.: Verh. anat. Ges. **1950**, 172. — BALL, H. A., and L. T. SAMUELS: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **38**, 441 (1938). — Amer. J. Canc. **32**, 50 (1938). — BARGMANN, W.: MÖLLENDORFS Handbuch der mikroskopischen Anatomie 1954. — BEGG, R. W.: Cancer Res. **11**, 341 (1951). — BEIGLBÖCK, W.: Klin. Wschr. **1940**, 595. — BECKMANN, R.: Beitr. Z. path. Anat. **60**, 139 (1914). — BENNETT, H. S.: Amer. J. Anat. **1940**, 67. — BENGTTSSON, G., K. A. MELIN u. T. PETRÉN: Morph. Jb. **83**, 277 (1939). — BLOOR, W. R., F. L. HAVEN and E. ASHWORTH: Cancer Res. **10**, 205 (1950). — BOGUTH, W., H. LANGENDORFF u. E. TONUTTI: Med. Welt **20**, 408 (1951). — BOYLAND, E., and D. McCLEAN: J. of Path. **41**, 553 (1935). — BÜCHNER, F.: Z. Path. **83**, 53 (1945). — Klin. Wschr. **1942**. — CREUTZFELDT, W., M. HUSTEN u. K. HAGER: Beitr. path. Anat. **113**, 428 (1953). — CATCHPOLE, H. R.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **75**, 221 (1950). — Ann. New York Acad. Sci. **52**, 989 (1950). — COHN, A. E.: Zit. nach PAUNZ. — DALTON, A. J., and V. P. PETERS: J. Nat. Canc. Inst. **5**, 99 (1944). — DALTON, A. J., V. P. PETERS, E. MITCHELL and

- B. F. JONES: *J. Nat. Canc. Inst.* **4**, 527 (1944). — DEANE, H. W., and R. O. GREEP: *Amer. J. Anat.* **79**, 117 (1946). — *Endocrinology* **40**, 417 (1947). — DEMPSEY, E. W., and D. L. BASSETT: *Endocrinology* **33**, 384 (1943). — DEMPSEY, E. W., and G. B. WISLOCKI: *Endocrinology* **35**, 409 (1944). — DILLER, J. C., B. BLANCH and L. BECK: *Cancer Res.* **59**, (1948). — DIETRICH, A.: *Zbl. Path.* **29**, 169 (1918). — *Virchows Arch.* **251**, 533 (1924). — DIETRICH, A., u. M. NORDMANN: *Krebsforsch.* **7**, 321 (1929). — DOLD, H.: *Z. Immun.forsch.* **24** (1916). — EGER, W.: *Virchows Arch.* **324**, 173 (1953). — EPSTEIN, E.: *Zit. nach KALBFLEISCH*, *Virchows Arch.* **273**, 89 (1929). — FIESER, L. P.: Reinhold Publishing Co. 1936. 255 S. — FRÖHLICH, A.: *Z. Immun.forsch.* **8**, 239 (1910). — *Dtsch. med. Wschr.* **1911**, 481. — GERLACH, W.: *Virchows Arch.* **247**, 294 (1923). — GEISSENDÖRFER, A.: *Virchows Arch.* **285**, 385 (1932). — GOLDZIEHER, M.: *Verh. dtsch. path. Ges.* **1911**, 276. — Die Nebennieren. Wiesbaden: Bergmann 1911. — GÜNTHER, W. G.: *Beitr. path. Anat.* **105**, 256 (1941). — GRUNDMANN, E.: *Beitr. path. Anat.* **111**, 35 (1950). — HAVEN, F. L., W. R. BLOOR and C. RANDALL: *Cancer Res.* **9**, 511 (1949). — HECHTER, O., A. ZAFFARONI, R. P. JAKOBSEN, H. LEWY, R. W. JEANLOZ, V. SCHENKER and G. PINKUS: *Recent. Progr. in Hormone Res.* **6**, 215 (1951). — HEINLEIN, H.: *Klin. Wschr.* **1949**, 721. — *Virchows Arch.* **294**, 692 (1935). — HEINLEIN, H., u. H. W. MÜSCHALLIK: *Klin. Wschr.* **1937**, 873. — HELMKE, K. H.: *Virchows Arch.* **304**, 255 (1939). — HESSE, W.: *Beitr. path. Anat.* **107**, 173 (1942). — HOEPKE, H.: *Z. Krebsforsch.* **58**, 378 (1952). — HOMUTH, O.: *Z. exper. Med.* **54**, 445 (1927). — HOWARD, H., A. BALL and L. SAMUELS: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **38**, 441 (1931). — HUECK, W.: *Morphologische Pathologie*. Leipzig: Georg Thieme 1948. — HUGGINS, C., and D. M. BERGENSTAL: *Cancer Res.* **12**, 134 (1952). — INGLE, D. J.: *Ann. Int. Med.* **35**, 652 (1951). — JAFFÉ, R., u. P. HOLZ: *Frankf. Z. Path.* **60**, 309 (1949). — KALBFLEISCH, H. H.: *Verh. dtsch. path. Ges.* (30. Tgg) **1937**, 73. — KLINGE, F.: *Allergie und Entzündung*. Jena: Gustav Fischer 1937. — *Erg. Path.* **1933**, 27. — KRACHT, E. u. Mitarb.: *Virchows Arch.* **321**, 241 (1951/52); **1953**. — KUCZINSKI, M. H.: *Virchows Arch.* **227**, (1919); **239** (1922). — LANGENDORFF, H.: *Zit. nach E. MÜLLER*. — LEWIS, M. R.: *Amer. J. Canc.* **30**, 95 (1937). — LETTERER, E.: *Verh. dtsch. path. Ges.* **26**, 199 (1951). — LEUPOLD, E., u. L. BOGENDÖRFER: *Dtsch. Arch. klin. Med.* **140**, 28 (1922). — LEUPOLD, E., A. HUHN u. P. SCHNEPPENHEIM: *Arch. Geschwulstforsch.* **1954**. — LIEBEGOTT, G.: *Verh. dtsch. path. Ges.* **26**, 21 (1952). — MARTIN, H. G., A. LOEVENHART and L. BUNTING: *J. of Exper. Med.* **27**, 399 (1918). — MCEUEN, G. S., and H. SELYE: *Amer. J. Med. Sci.* **189**, 423 (1935). — MCEUEN, G. S., and D. L. THOMSON: *Brit. J. Exper. Path.* **14**, 384 (1933). — MCEUEN, H. D., and B. N. KROPP: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **78**, 97 (1951). — MIDER, G. B., C. D. SHERMAN and J. J. MORTON: *Cancer Res.* **9**, 222 (1949). — MÜLLER, E.: *Handbuch der allgemeinen pathologischen Anatomie*. Berlin: Springer 1954. — MÜLLER, E., u. W. ROTTER: *Beitr. path. Anat.* **107**, 156 (1942). — MÜLLER, E., W. ROTTER, G. CAROW u. K. KLOOS: *Beitr. path. Anat.* **108**, 551 (1943). — PAUNZ, TH.: *Virchows Arch.* **242**, 138 (1923). — PENTIMALLI, F.: *Virchows Arch.* **275**, 193 (1929). — PICHOTKA, J.: *Beitr. path. Anat.* **107**, 117 (1942). — POLLOCK, W. F.: *Anat. Rec.* **84**, 23 (1942). — RICH, A. R.: *Bull. Hopkins Hosp.* **74**, 1 (1944). — RÖSSLE, R.: *Verh. dtsch. path. Ges.* **17**, 281 (1914). — *Virchows Arch.* **291**, 1 (1933); **311**, 252 (1944). — *Klin. Wschr.* **1942**, **1935**, 769. — SADOWNIKOW, W.: *Virchows Arch.* **317**, 315 (1951). — SAYERS, G., and M. SAYERS: *Endocrinology* **38**, 1 (1946). — *Adrenal cortex*, Macy Found. New York 1951. — SCHNEPPENHEIM, P.: *Inaug.-Diss.* Köln 1953. — SELYE, H., and H. STONE: *Exp. Morphol. of the adrenal cortex*. Springfield: Ch. C. Thomas 1950. — *Amer. J. Path.* **26**, 211 (1950). — SIEGMUND, H.: *Z. path. Anat.* **35**, 276 (1924). — *Verh. dtsch. Ges. Path.* **1925**, 260; **1937**, 159. — *Z. exper. Med.* **50**, 73 (1926). — *Z. Kreislauf-forsch.* **21**, 389 (1929). — *Handbuch der allgemeinen pathologischen Anatomie*.

Berlin: Springer 1954. Zit. nach E. MÜLLER. — SRERE, P. A., J. L. CHAIKOFF and W. G. DAUBEN: J. of Biol. Chem. **176**, 829 (1948). — THOMAS, E.: Beitr. path. Anat. **49** (1910); **50**, 283 (1911). — TONUTTI, E.: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **50**, (1941). — Klin. Wschr. **1942**, 33, 739; **1950**, 137. — Verh. dtsh. Ges. inn. Med. **51**, 648 (1942). — Verh. dtsh. Ges. Path. **36**, 123 (1952). — VAUBEL, E.: Beitr. path. Anat. **89**, 374 (1932). — VERSAR, F.: Die Funktion der Nebennierenrinde. Basel 1939. — Schweiz. med. Wschr. **1942**, 661; **1950**, 468. — WÄTJEN, J.: Verh. dtsh. path. Ges. (30. Tgg) **1937**, 148. — WALLRAFF, J.: Verh. dtsh. Ges. Path. **1952**. — WAWERSIK, F.: Med. Welt **1952**, 10. — WEAVER, H. M., and W. O. NELSON: Anat. Rec. **85**, 51 (1943). — WERNER, M.: Virchows Arch **301**, 552 (1938). — WISLOCKI, G. B., and H. S. BENETT: Amer. J. Anat. **73**, 335 (1943). — YOFFEY, J. M., and J. S. BAXTER: J. of Anat. **83**, 89 (1949). — ZAFFARONI, A., O. HECHTER and G. PINCUS: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 1391 (1951). — ZOLLINGER, H.: Zit. bei E. MÜLLER. — ZWEMER, R. L.: Amer. J. Path. **12**, 107 (1936).

Dr. ALBERT HUH N und Dr. PETER SCHNEPPENHEIM,
Pathologisches Institut der Universität Köln.
