

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. W. BÜNGELER)

Histochemische Untersuchungen an menschlichen Nebennieren, knotigen Nebennierenrindenhyperplasien und Nebennierenrindenadenomen

Von

M. EDER und J. BERNHARD

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. Mai 1963)

Zahlreiche Krankheitsprozesse führen über eine länger dauernde gesteigerte Organfunktion zur Hyperplasie der Nebennierenrinde (NNR). Da diese Hyperplasie sowohl diffus als auch knotenförmig auftritt, ist die menschliche NNR ein günstiges Untersuchungsobjekt zur Klärung der Frage, warum diese Wachstumsprozesse sowohl diffus als auch knotenförmig auftreten, obwohl der zur Hyperplasie führende Reiz das gesamte Rindengewebe trifft. Dieses die allgemeine Pathologie des Wachstums betreffende Problem wurde von uns früher an Epithelkörperchen untersucht [EDER 1961; (1) (2)]. Hierbei konnte gezeigt werden, daß sowohl Strukturbedingungen als auch Funktionsunterschiede eine Rolle spielen können. Wie bereits früher kurz angegeben, bieten sich durch die Anwendung histochemischer Nachweisverfahren an der NNR günstigere Voraussetzungen zur Kennzeichnung von Funktionsunterschieden als am Epithelkörperchen.

Untersuchungsgut und Methodik

Von 116 Fällen (20—77 Jahre alt) wurden die Nebennieren 4—24 Std p. m. entnommen, 7 Nebennieren bzw. Teilstücke von Nebennieren wurden frisch nach Operationen untersucht. Eine Reihe von Fällen mußte wegen ungenügenden Erhaltungszustandes ausgeschieden werden. Endgültig verwertet wurden 81 Fälle (37 männlich, 44 weiblich), darunter die Nebennieren von 5 gesunden, plötzlich verstorbenen Patienten. Weiter wurden 7 kirsch- bis apfelgroße NNR-Adenome untersucht (1 Fall mit Morbus Cushing, 1 Fall mit adrenogenitalem Syndrom, 2 Fälle mit rotem Hochdruck, 3 Fälle mit Bronchuscarinom). Die Untersuchungen wurden an Kryostatserienschnitten durchgeführt, die bei einem Teil der Enzymreaktionen 1 Std in Aceton (4°) nachfixiert wurden. Hiernach fällt die Sudanfärbung negativ aus. Neben Hämalan-Eosin-Färbung und Sudan-III-Färbung, der Reaktion nach SCHULZ sowie polarisationsoptischer Untersuchung wurden an Serienschnitten folgende histochemische Enzymnachweise durchgeführt:

DPN- und TPN-Diaphorase nach SCARPELLI, HESS und PEARSE; Succino-, Lactat-, Malat- und Glucose-6-Phosphat-Dehydrase nach HESS, SCARPELLI und PEARSE; saure Phosphatase: a) nach GOMORI, Inkubationszeit 45 min bis 1 Std; b) Azofarbstoffmethode nach PEARSE, Inkubationszeit 45 min; Adenosintriphosphatase nach WACHSTEIN und MEISEL, Inkubationszeit 1—2 Std; alkalische Phosphatase: a) nach GOMORI, Inkubationszeit 1 Std; b) Azofarbstoffmethode nach PEARSE, Inkubationszeit 15 und 30 min; unspezifische Esterase: a) nach PEARSE (Substrat α -naphthyl-Acetat), Inkubationszeit 15 min; b) nach GOMORI (Substrat Naphthol-AS-Acetat), Inkubationszeit 30 min; c) nach GÖSSNER (Substrat Naphthol-AS-D-Acetat), Inkubationszeit 1 Std; d) nach BURSTONE (Substrat Naphthol-AS-LC-Acetat, Diazonium-Salz Garnet-GBC), Inkubationszeit 30 min (Methodik s. PEARSE);

Steroid-3 β -Ol-Dehydrase nach WATTENBERG (Substrat Dehydroepiandrosteron), Inkubationszeit 1 Std; als weiteres Substrat wurde Androsten-3 β ,17 β -Diol, als Kontrollsubstrate wurden Testosteron und Oestradiol verwandt. Die Durchführung dieser letzteren Reaktion ist am Obduktionsgut zeitlich streng begrenzt; nach etwa 12 Std p. m. ist dieses Enzym nicht mehr darstellbar.

Befunde

1. Die normale und die entspeicherte Nebennierenrinde

1. Die „normale“, lipoidhaltige Nebennierenrinde. Zur Untersuchung standen 11 Fälle, darunter die Nebennieren von fünf plötzlich verstorbenen Personen, zur Verfügung, die eine weitgehend normale, lipoidhaltige NNR aufwiesen (s. BACHMANN). Die Mehrzahl der untersuchten histochemischen Enzymreaktionen zeigt in diesem Zustand eine typische Verteilung:

Die alkalische Phosphatase-Reaktion ist sowohl bei der Calcium-Kobalt-Methode als auch bei den Azo-Kupplungsverfahren auf die Zona reticularis begrenzt. In den übrigen Rindenabschnitten ist sie fast vollkommen negativ, lediglich die Gefäßwände im Bereich der Zona fasciculata und Zona glomerulosa zeigen eine wechselnd starke Reaktion. Eine wesentlich intensivere Enzymreaktion in den Gefäßwänden findet sich beim Nachweis der ATP-ase, der in den Parenchymzellen aller Rindenabschnitte nur sehr schwach ausfällt. Dagegen fällt der histochemische Nachweis für saure Phosphatasen sowohl bei der Bleinitrat- als auch bei der Azo-Kupplungsmethode in den Zellen der Zona reticularis und der inneren Fasciculata stark positiv aus. Zwar sind auch in den äußeren Rindenschichten (Zona glomerulosa und äußere Zona fasciculata) saure Phosphatasen nachweisbar, jedoch sehr viel schwächer als in den inneren Rindenanteilen. Ebenso wie für die Azo-Kupplungsverfahren der Phosphatasen ist für den Nachweis der unspezifischen Esterase eine Vorbehandlung mit Aceton zur exakten Enzymlokalisation vorteilhaft. Die unspezifische Esterase, unter Verwendung von α -Naphthyl-Acetat als Substrat, führt zu einer sehr kräftigen Cytoplasmareaktion der Zellen der Zona reticularis und der inneren Fasciculata. Diese Lokalisation entspricht damit weitgehend der der sauren Phosphatase. Während die äußere Fasciculata in der Regel eine geringere Enzymreaktion zeigt, wechseln die Verhältnisse in der Zona glomerulosa, wenngleich die überwiegende Mehrzahl der Fälle hier nur eine schwache Esterase-Reaktion aufweist (Abb. 1a). Auch bei Verwendung anderer Substrate zum Esterasenachweis (Naphthol-AS-Acetat, Naphthol-AS-D-Acetat und Naphthol-AS-LC-Acetat) findet sich eine gleiche Lokalisation der Enzymreaktion, meist jedoch schwächer als bei Verwendung von α -Naphthyl-Acetat. Der Reaktionsausfall beim Nachweis von Succino- und Lactatdehydrase wechselt; öfter findet sich eine positive Reaktion in der Zona glomerulosa und zum Teil auch in der Zona reticularis. Jedoch sind nicht regelmäßig alle Zellen dieser Abschnitte bei diesen Enzymreaktionen positiv; mehrfach wurde ein gegensätzliches Verteilungsmuster dieser beiden Enzyme festgestellt, im Unterschied zum Nachweis der Malatdehydrase, die regelmäßig dort positiv ausfällt, wo auch die Lactatdehydrase nachweisbar ist. Die Steroid-3 β -Ol-Dehydrase fällt in der Regel relativ kräftig aus. Sie ist in der Zona glomerulosa positiv, am stärksten in den äußeren Anteilen der Zona fasciculata, nimmt meist zur inneren Fasciculata hin ab, kann aber auch noch in der Zona reticularis nachgewiesen werden. Die Reaktion für die Steroid-Dehydrase

ist hitzeinaktivierbar, sie zeigt die stärkste Reaktion bei Verwendung von Dehydroepiandrosteron als Substrat und eine etwas schwächere Reaktion bei Verwendung von Androsten- $3\beta,17\beta$ -Diol, einem Substrat, bei dem ebenfalls eine verfügbare 3β -Ol-Gruppe vorliegt; sie fällt jedoch regelmäßig bei Verwendung von Testosteron oder Oestradiol negativ aus.

2. Die Nebennierenrinde bei Lipoidentspeicherung. Es kann auf Grund der Arbeiten von SELYE, TONUTTI, LIEBEGOTT, BACHMANN und vielen anderen als gesichert angesehen werden,

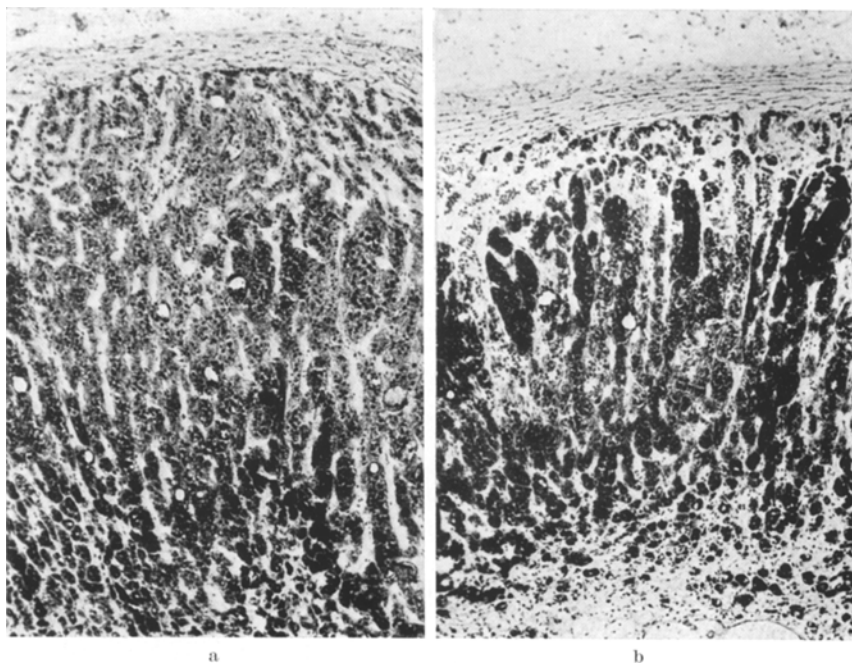


Abb. 1a u. b. Nebenniere, Mensch. Reaktion für unspezifische Esterase. a Bei kräftigem Lipoidgehalt findet sich eine starke Reaktion in der Zona reticularis und den inneren Anteilen der Zona fasciculata. b Bei streifenförmiger Lipoidentspeicherung findet sich in diesen Bereichen auch eine streifenförmige starke Reaktion in der äußeren Fasciculata. Vergr. 24 \times

daß die Lipoidentspeicherung der NNR Ausdruck einer akuten Belastung, d. h. einer plötzlichen Mehrleistung dieses Organs, darstellt. Dieses Grundphänomen der funktionellen Morphologie der NNR ist, wie in jedem Obduktionsgut, auch im vorliegenden Untersuchungsmaterial außerordentlich häufig anzutreffen. 62 Fälle mit allen Stadien der Lipoidentspeicherung standen für die Untersuchung des Verhaltens der histochemisch nachweisbaren Enzyme zur Verfügung. Die Entspeicherung der menschlichen NNR tritt häufig nicht gleichmäßig, sondern streifenförmig ein, wobei größere oder kleinere Bündel von Zellsäulen der Fasciculata Lipoidschwund aufweisen. Diese herdförmige Entspeicherung bietet auf Grund der günstigen Vergleichsmöglichkeiten den Ansatzpunkt, die verschiedenen histochemisch nachweisbaren Enzyme in der NNR auf ihr funktionsabhängiges Verhalten zu prüfen.

Die Reaktion für *alkalische Phosphatase* ist, ebenso wie in der lipoidhaltigen NNR, vorzüglich in der Zona reticularis lokalisiert. In den Abschnitten der Zona fasciculata, die eine Entspeicherung aufweisen, findet sich eine schwache Cytoplasmareaktion, die sich zwar von der sehr viel stärkeren Reaktion in der Zona reticularis unterscheidet, jedoch deutlich abzugrenzen ist von der negativen Enzymreaktion in den lipoidhaltigen Fasciculataanteilen. Die Enzymreaktion in

den Capillarwänden fällt hierbei in der Regel kräftiger aus als im Zustand voller Lipoidspeicherung.

Einen wesentlich ausgeprägteren Unterschied in der Enzymverteilung zwischen Lipoidspeicherung und herdförmiger Entspeicherung zeigen die Befunde beim Nachweis der *unspezifischen Esterase*. Die intensive Reaktion in der Zona reticularis bleibt erhalten, jedoch zeigen die Fasciculataanteile, in denen eine Lipoidentspeicherung eingetreten ist, eine ebenso intensive Esterasereaktion (Abb. 1b). So entsteht ein außerordentlich charakteristisches Verteilungsmuster mit einem kräftigen Reticularisband und einer hiervon in die Fasciculata einstrahlenden streifen- oder zungenförmigen intensiven Esterasereaktion, wobei sich ein gegensätzliches Verteilungsmuster zur Sudanfärbung ergibt. In Fasciculataabschnitten mit geringer Lipoidentspeicherung zeigt sich ebenfalls eine kräftige Esterasereaktion; dies ist auch im Randbezirk von Entspeicherungsabschnitten feststellbar.

Die Verteilung der *sauren Phosphatase* ist der der unspezifischen Esterase ähnlich. Auch hier findet sich im Unterschied zum Verhalten bei der lipoidhaltigen NNR eine deutlich kräftigere, ebenfalls streifenförmig angeordnete Enzymreaktion in den Abschnitten, die eine stärkere Lipoidentspeicherung aufweisen. Die regelmäßig untersuchten Kryostatserienschnitte beweisen dabei, daß die esterase-positiven Anteile der Zona fasciculata mit denen der kräftigen Saure-Phosphatase-Reaktion übereinstimmen. Im Unterschied zur unspezifischen Esterase ist jedoch die Abgrenzung der verstärkten Saure-Phosphatase-Reaktion in den lipoidarmen Fasciculataabschnitten gegenüber den lipoidhaltigen umgebenden Rindenanteilen wesentlich unschärfer.

Die primär in den äußeren Rindenschichten lokalisierte *Steroid-Dehydrase-Reaktion* führt zu einem besonders intensiven Reaktionsausfall in den Abschnitten, die bei der Sudanfärbung einen geringeren Lipoidgehalt aufweisen. Im Unterschied zu der meist scharfen Abgrenzung zwischen Anteilen mit kräftigem Lipoidgehalt und streifenförmiger Entspeicherung findet sich oft zwischen Abschnitten stärkerer oder schwächerer Steroid-Dehydrase-Reaktion ein fließender Übergang. Gelegentlich war in Abschnitten mit völlig negativer Sudanreaktion in der Fasciculata keine Steroid-Dehydrase nachweisbar.

Unregelmäßig fallen bei herdförmiger Entspeicherung die *Succinodehydrase- und die Lactatdehydrase-Reaktion* aus. Letztere zeigt häufig in Abschnitten stärkerer Entspeicherung in der äußeren Fasciculata einen kräftigen Reaktionsausfall.

II. Knotenförmige Nebennierenrindenhyperplasie

Unter dem makroskopischen Erscheinungsbild einer sog. knotenförmigen Hyperplasie findet sich knotig angeordnetes Rindengewebe in zwei Formen, die scharf voneinander abzugrenzen sind. Bei der einen handelt es sich um Rindenknotten, die sich über die Oberfläche vorwölben und häufig in der Kapsel gelegen sind. Für diese Veränderung wird in der deutschsprachigen Literatur (DIETRICH und SIEGMUND; BACHMANN) meist die Bezeichnung „Accessorische Rindenknötchen“ verwandt. Sie sind im Kindesalter häufig anzutreffen, selten dagegen im jugendlichen Erwachsenenalter (LANDAU; DIETRICH und SIEGMUND). Die Berechtigung, derartige Rindenknötchen im Rahmen knotiger Hyperplasien zu besprechen, ergibt sich aus der Tatsache, daß sie bei Hyperplasie der NNR im höheren Lebensalter gehäuft auftreten (SHAMMA u. Mitarb.), woraus hervorgeht, daß hierbei Rindengewebe neu entstanden sein muß. Unabhängig von der Frage, ob unter dem Reiz der Hyperplasie Rindengewebe aus Blastengewebe in der Kapsel entsteht (s. BACHMANN), weisen zahlreiche Befunde darauf hin, daß bei

der NNR-Hyperplasie im höheren Lebensalter Vorstülpungen von Rindengewebe zu derartigen Knotenbildungen führen können. Die andere Form von Rindenknotten, die hiervon getrennt zu besprechen ist, findet sich in der hyperplastischen NNR im Fasciculata-Bereich, d. h. intracortical.

1. Sub- und intracapsuläre Knoten. Zur Beurteilung, ob sich hinsichtlich des *Lipidgehalts* zwischen diesen Knotenbildungen und dem übrigen Rindengewebe Unterschiede finden, wurden 152 Nebennieren einer früheren Untersuchung zusätzlich mitverwertet. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer

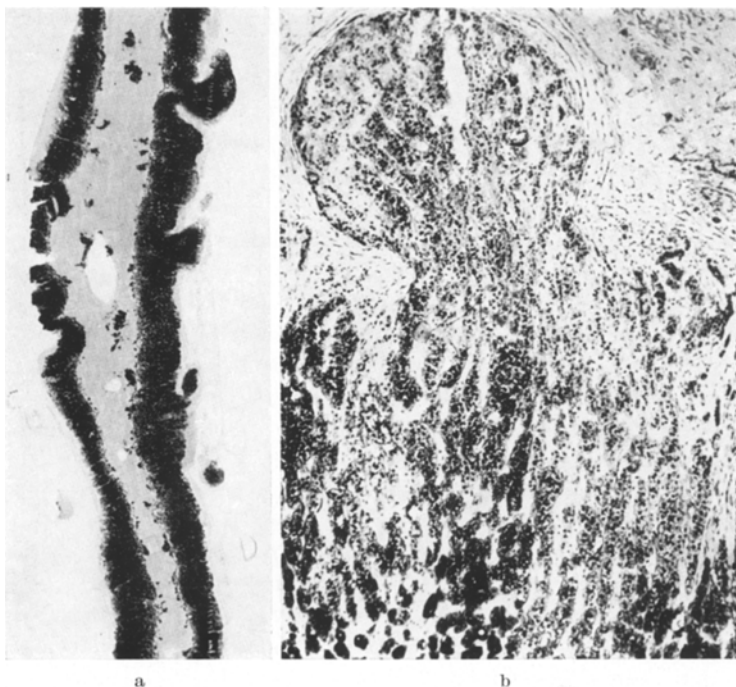


Abb. 2a u. b. Knotige Hyperplasie mit sub- und intracorticalen Rindenknötchen. a Übersicht bei unspezifischer Esterase-Reaktion, die bei stärkerer Lipoidentspeicherung sowohl in der Rinde als auch in den Knoten intensiv positiv ausfällt. Oben rechts findet sich im Bereich einer Knotenbildung eine zipfelförmige Ausziehung des fermentnegativen Markabschnittes. Vergr. etwa $3\times$. b Stärkere Vergrößerung von a: Kleine Rindenausstülpung, in der noch keine Rindenschichtung entwickelt ist. Ebenso wie in der lipoidreichen äußeren Zona fasciculata findet sich hier nur eine geringe Esterase-Reaktion, im Unterschied zur starken Reaktion in der Zona reticularis (unterer Bildrand) Vergr. $24\times$

Autoren (s. DIETRICH und SIEGMUND; BACHMANN) fand sich ein starker Lipoidgehalt bei lipoidreicher übriger Rinde und eine Entspeicherung, wenn die übrige Rinde streifenförmigen oder diffusen Lipoidschwund zeigte. Nur bei etwa 5% dieser Rindenknotten war eine geringe oder gar keine Lipoidentspeicherung feststellbar, wenn die übrige Rinde stärker entspeichert war.

Ebenso wie der Lipoidgehalt, zeigten die *Enzymreaktionen* in diesen Knoten mit großer Regelmäßigkeit ein der übrigen Rinde entsprechendes Verhalten (Abb. 2). Da in voll entwickelten Knoten die Parenchymzellen eine deutliche Gliederung in Glomerulosa, Fasciculata und einen kleinen zentralen Reticularisanteil aufweisen, ist bei starker Lipoidspeicherung eine starke Unspezifische-Esterase-Reaktion nur in den zentralen (Reticularis-)Anteilen nachweisbar. Ein

ähnliches Verteilungsmuster ergibt sich völlig analog für die übrigen Enzyme; ein der übrigen Rinde entsprechendes Verhalten auch bei Lipoidentspeicherung.

Aus den fermenthistochemischen Bildern ergeben sich mehrfach eindeutige Anhaltspunkte für die formale Entstehung dieser bei der NNR-Hyperplasie des Erwachsenen gehäuft nachweisbaren Rindenknotten. Wenn von der Rinde aus über eine oft nachweisbare stielartige Verbindung ein durch kräftige Enzymreaktion gekennzeichnetes Zellband in die Knotenbildung übergeht, spricht dies gegen die Annahme einer Verschmelzung eines primär unabhängig im Kapselgewebe entstandenen Knotens mit der Rinde. In ähnlicher Weise sind Befunde zu deuten, bei denen, bei starker Lipoidspeicherung, eine kräftige Esterase-Reaktion nur in der Zona reticularis nachweisbar ist. Für solche Beobachtungen sind also Ausstülpungsvorgänge anzunehmen (Abb. 2a oben rechts).

2. Intracorticale Knoten. In 21 Fällen waren mehrere kleine Rindenknotten im Bereich der Zona fasciculata so getroffen, daß an Kryostatserienschnitten alle Enzymreaktionen sowie die Lipoiddarstellung durchgeführt werden konnten. Aus der bogenförmigen Verdrängung der Fasciculatasäulen der angrenzenden Rindenabschnitte geht hervor, daß es sich hierbei um knotenförmige Wachstumsprozesse handelt. Die Lipoid- und Enzymreaktionen fallen bei den einzelnen Knoten, teilweise sogar in der gleichen Nebenniere, sehr verschiedenartig aus. Regelmäßig verhalten sich jedoch alle Zellen eines Knotens gleich. Die sehr unterschiedlichen Befunde lassen sich in folgende Gruppen gliedern:

a) Bei positiver Sudanfärbung eine negative Esterase- und Saure-Phosphatase-Reaktion, eine wechselnd positive, meist gegensätzlich verteilte Lactat- und Succinodehydrase-Reaktion. Dieses Verteilungsmuster entspricht somit dem Verhalten der äußeren Zona fasciculata bei kräftiger Lipoidspeicherung.

b) Bei positiver Sudanreaktion eine kräftige Esterase- und Saure-Phosphatase-Reaktion sowie eine kräftige Steroid-Dehydrase-Reaktion. Dieses Verhalten entspricht im Verteilungsmuster somit den Fasciculata-Abschnitten, die bei geringer Lipoidentspeicherung noch reichlich Lipoid aufweisen, jedoch eine kräftige Esterase- und Saure-Phosphatase-Reaktion zeigen.

c) Bei positiver Sudanfärbung entweder eine kräftige Saure-Phosphatase-, jedoch keine Esterase-Reaktion (Abb. 3), oder umgekehrt eine kräftige Esterase-, jedoch keine Saure-Phosphatase-Reaktion. Die Steroid-Dehydrase-Reaktion fällt dabei teils negativ, teils schwach bis mittelstark aus.

d) Bei negativer Sudanfärbung eine kräftige Esterase- und Saure-Phosphatase-Reaktion, meist gekoppelt mit einer kräftigen Lactatdehydrase-Reaktion. Die Steroid-Dehydrase-Reaktion kann hierbei sowohl negativ als auch positiv ausfallen. Dieses Verteilungsmuster entspricht im wesentlichen dem Verhalten von Fasciculata-Abschnitten, die eine starke Lipoidentspeicherung aufweisen.

e) Bei negativer Sudanreaktion eine sehr kräftige Saure-Phosphatase-, jedoch keine Esterase-Reaktion, wobei ziemlich regelmäßig eine starke Succinodehydrase-Reaktion nachweisbar ist. In drei solchen Fällen fand sich hierbei keine, in einem Fall eine schwache Steroid-Dehydrase-Reaktion.

Gemeinsam findet sich bei diesen verschiedenen Verteilungsmustern im sudanpositiven Knötchen eine schwache, in der Mehrzahl der sudannegativen Knötchen eine starke ATP-ase-Reaktion in den Gefäßwänden, nicht jedoch in den Parenchymzellen. Hierbei zeigt sich am Knotenrand, daß bei größeren Wachstums-

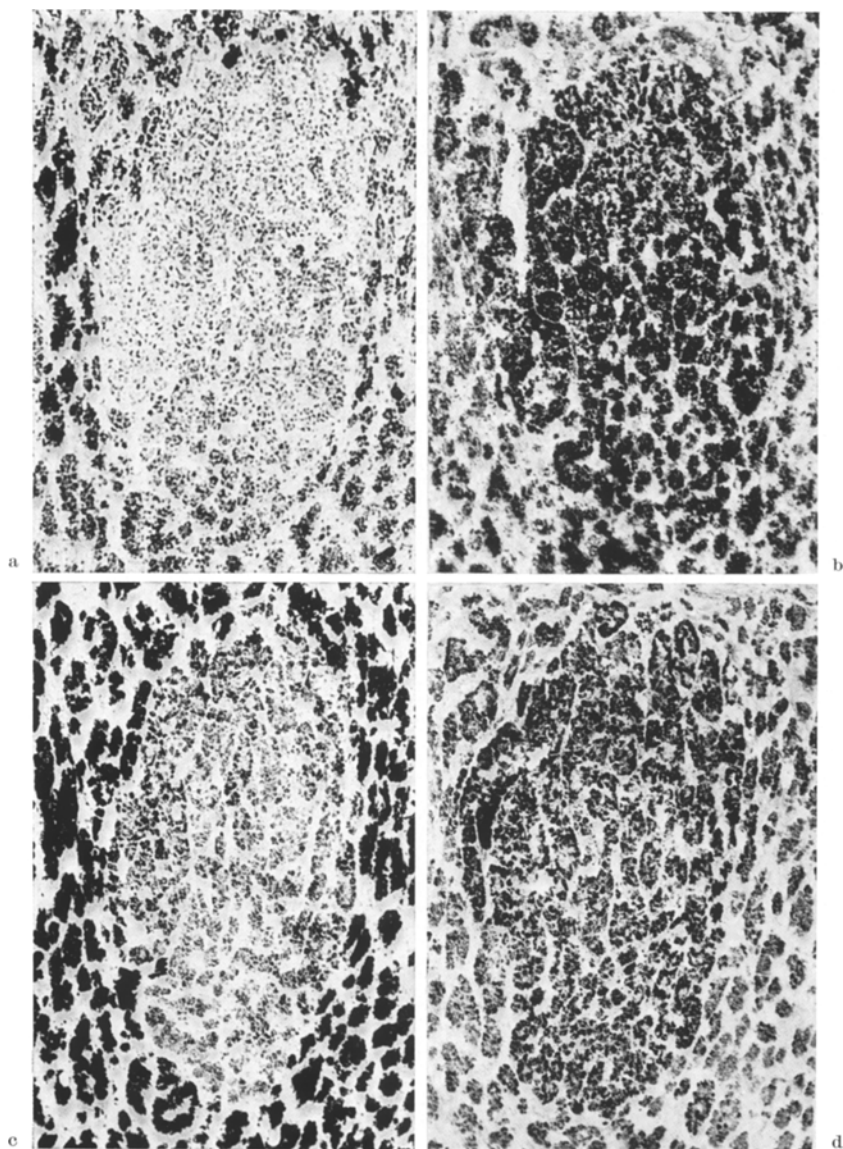


Abb. 3a—d. Kleines intracorticales Rindenknötchen. a Sudanfärbung: Bei mäßiger Lipoidenspeicherung im umgebenden Rindengewebe ist im Knötchen kein Lipoid nachweisbar. b Saure Phosphatase-Reaktion (Gomori): Entsprechend der nachweisbaren Lipoidenspeicherung zeigt das umgebende Rindengewebe eine kräftige Reaktion, die Knotenbildung hebt sich durch eine verstärkte Reaktion ab. c Unspezifische-Esterase-Reaktion: Entsprechend der Lipoidenspeicherung wie bei der Saure-Phosphatase-Reaktion findet sich im umgebenden Rindengewebe eine starke Esterase-Reaktion, hiervon abweichend jedoch nicht im Knoten. d Succinodehydrogenase-Reaktion: Der Knoten ist durch eine verstärkte Enzymreaktion vom Rindengewebe abgesetzt. Vergr. 35 ×

herden die Capillaren der anliegenden Fasciculatasäulen komprimiert werden und vermutlich durch Schwund von Rindenzellen zu Bündeln zusammengelagert sind. Mit dem Auftreten einer positiven van-Gieson-Färbung entwickelt sich hieraus eine Kapsel.

III. Nebennierenrinden-Adenome

Dem üblichen Sprachgebrauch folgend wurden als NNR-Adenome kirsch- bis apfelgroße Knoten aus Rindengewebe bezeichnet, 5 Fälle ohne, 2 Fälle mit endokrinem Krankheitsbild (Cushing und adrenogenitales Syndrom).

Die NNR-Adenome *ohne endokrines Krankheitsbild* zeigten alle, abgesehen von zentralen Vernarbungen, eine kräftige Sudanreaktion. Regelmäßig war die unspezifische Esterase nur in einem schmalen Randsaum positiv, sonst jedoch im übrigen Adenom negativ. Hierdurch setzt sich das Adenom, das bei H-E- und Sudanfärbung oft nicht von der Rinde abgegrenzt werden kann, scharf von

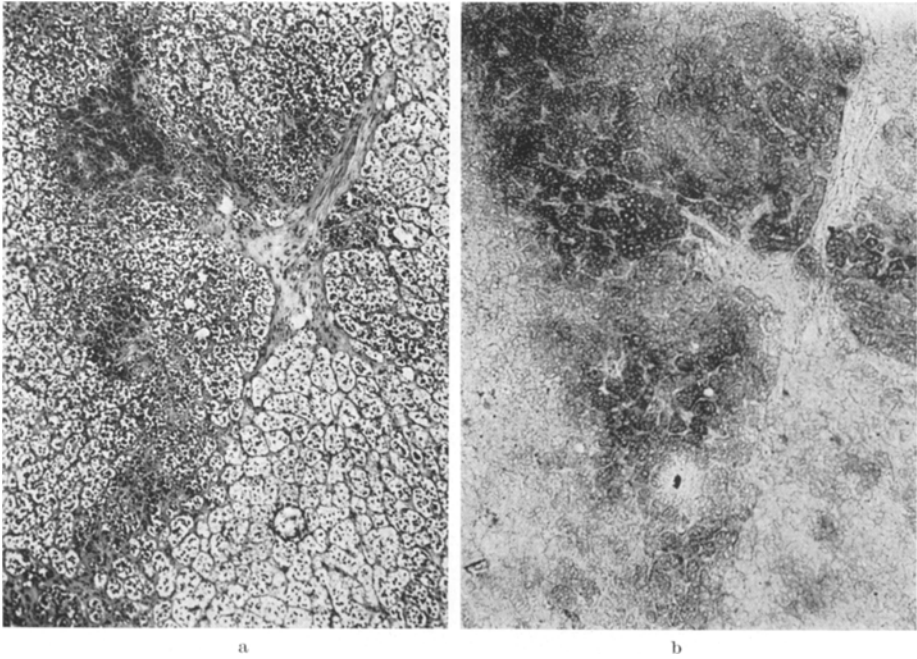


Abb. 4a u. b. Ausschnitt aus einem pflaumengroßen stummen Adenom. a H-E-Färbung: In der Umgebung von Bindegewebssepten finden sich Zellbänder, die nicht wie das übrige Adenomgewebe aus großen, lipoidbeladenen Zellen bestehen. b Die gleiche Stelle bei Steroid-3 β -Ol-Dehydrogase: Nur die bei a beschriebenen Adenomabschnitte zeigen eine Reaktion (s. Text). Vergr. 36 \times

dieser ab. In ihr ist je nach dem Lipoidgehalt entweder nur die Zona reticularis oder auch die Zona fasciculata positiv. Die Reaktion für saure Phosphatase fällt dagegen im Adenomgewebe ebenso kräftig oder noch stärker aus als in der übrigen Rinde. Da die Alkalische-Phosphatase-Reaktion im Cytoplasma der Adenomzellen negativ ist, setzt sich auch bei dieser Reaktion das Adenom scharf gegen die positive Zona reticularis der übrigen Rinde ab. Die Steroid-Dehydrogase-Reaktion fällt nur in schmalen Randabschnitten positiv aus oder in schmalen Zellnestern und -bändern lipoidarmer Zellen, die sich an Bindegewebssepten entlang im Adenom finden (Abb. 4). In allen Fällen stand das Adenomgewebe in einer direkten Verbindung zum übrigen Rindengewebe; in einem Fall eines knapp kirschgroßen Adenoms reichte dieses vom Mark bis zur Kapsel, wobei durch die Esterase- und Alkalische-Phosphatase-Reaktion deutlich wird, daß die alte Rinde am Rand hochgedrängt ist und über dem Adenom abbricht.

Die histochemischen Befunde der beiden Adenome mit *Morbus Cushing* bzw. adrenogenitalem Syndrom sind sich ähnlich. Sie unterscheiden sich von den eben besprochenen Adenomen durch einen stark wechselnden Lipoidgehalt in den verschiedenen Adenomabschnitten. Ebenso wechselnd ist auch die Verteilung der Enzymreaktionen (Abb. 5). Nebeneinander finden sich hier die Anteile mit starkem Lipoidgehalt und sowohl schwacher als auch starker Esterase-Reaktion.

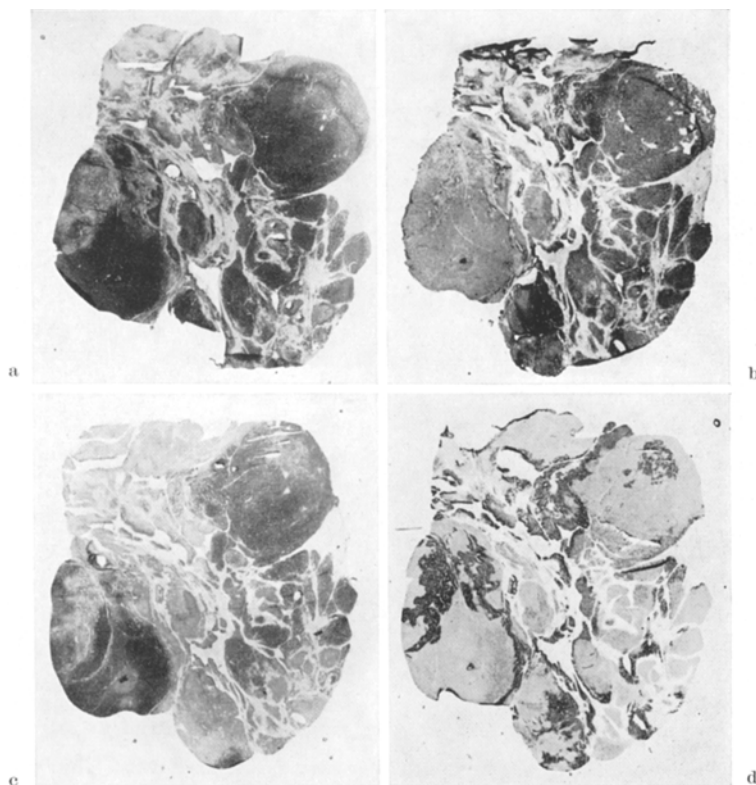


Abb. 5a—d. Teil eines Adenoms bei *Morbus Cushing*. Das von Bindegewebssepten durchzogene Adenomgewebe zeigt einen lappigen Aufbau mit wechselndem Lipoidgehalt. a—d: Bei den Enzymreaktionen zeigt sich eine in den verschiedenen Adenomabschnitten stark wechselnde Aktivität, die keine topographischen Verteilungsmuster erkennen läßt. a Saure Phosphatase nach GOMORI, b Unspezifische Esterase, c Lactatdehydrogenase, d Succinodehydrogenase. Vergr. etwa $2 \times$

Ähnlich wechselnd, wenn auch nicht so scharf abgesetzt, ist die Intensität der Saure-Phosphatase-Reaktion in den verschiedenen Adenomabschnitten, wobei jedoch meist eine starke Reaktion überwiegt. Abschnitte starker Saure-Phosphatase-Reaktion entsprechen denen starker Esterase-Reaktion. Auch die Alkalische-Phosphatase-Reaktion zeigt wechselnde Intensität, im ganzen jedoch einen schwachen Reaktionsausfall. Besonders deutlich ist die ebenfalls wechselnde, meist gegensätzliche Lokalisation der Reaktionen für Lactat- und Succinodehydrogenase. Die Steroid-Dehydrogenase war in unseren Fällen überall nachweisbar, jedoch wechselt auch hier die Intensität beträchtlich, wobei weder mit dem Sudanbild noch mit der Verteilung der unspezifischen Esterase eine exakte Übereinstimmung besteht.

Besprechung

Hyperplasien auf Grund einer gesteigerten Organfunktion treten an der menschlichen NNR besonders häufig auf. Für die NNR-Hyperplasie beim Hochdruck (s. LIEBEGOTT) konnte gezeigt werden, daß diese einen Anpassungsvorgang im Sinne der Anpassungshyperplasie BÜNGELERS darstellt und mit einer vergrößerten aktuellen Funktionsreserve der 17-Hydroxy-Corticosteroide einhergeht (EDER und SCHWARZ). Da sowohl bei diesen als auch bei anderen Hyperplasien häufig knotige Wachstumsprozesse auftreten, ergab sich die Frage, warum hierbei neben diffusem Wachstum auch knotenförmige Hyperplasien entstehen und ob diese sich funktionell ebenso wie das übrige Rindengewebe verhalten oder nicht. Im Hinblick auf die Schwierigkeiten einer direkten Erfassung des Funktionszustandes von NNR-Zellen erschien es aussichtsreich, die Ausstattung des Cytoplasmas mit histochemisch nachweisbaren Enzymen zur näheren Charakterisierung heranzuziehen. Besonders in experimentellen Untersuchungen sind histochemische Enzymnachweise an der NNR angewandt worden (zusammenfassende Literatur s. bei DEANE). Voraussetzung für eine Anwendung dieser Methoden an Hyperplasien und Adenomen war die Untersuchung normaler Nebennieren im Zustand der Lipoidspeicherung und -entspeicherung.

Der Vergleich von „normalen“ lipoidhaltigen NNR mit solchen, in denen verschiedene Grade einer Lipoidentspeicherung als Ausdruck einer Mehrleistung vorlagen, zeigten, daß verschiedene Enzyme ein typisches Verteilungsmuster aufweisen, das sich entsprechend der Lipoidentspeicherung ändert (s. Abb. 1). Dies gilt besonders für die unspezifische Esterase und die saure Phosphatase. Diese sind in der lipoidhaltigen Rinde mit einer starken Reaktion in der Zona reticularis und den innersten Anteilen der Zona fasciculata nachweisbar. Entsprechende Befunde an menschlichen NNR wurden für die saure Phosphatase von GOMORI, SELIGMAN und MANHEIMER sowie SYMINGTON u. Mitarb., für die unspezifische Esterase von MALATY u. BOURNE, BOURNE, SYMINGTON u. Mitarb., sowie DAWSON u. Mitarb. erhoben. Im Bereich stärkerer Lipoidentspeicherung findet sich auch in äußeren Anteilen der Zona fasciculata eine ähnlich starke Enzymreaktion. Das gegenseitige Verteilungsmuster stark sudanpositiver Zellen und lipoidarmer Zellen mit starker Enzymreaktion ist dabei so regelmäßig anzutreffen, daß eine offenkundige gegenseitige Abhängigkeit besteht. Hierbei tritt in Abschnitten primär schwacher Enzymreaktion eine Zunahme der Reaktionsintensität bereits dann ein, wenn die Lipoidabnahme eben erst zu erkennen ist. Die Lokalisation dieser Enzyme im Ruhezustand in der Zona reticularis hängt demnach nicht von einer speziellen Funktion dieser Zone etwa im Sinne einer in den verschiedenen NNR-Zonen vermuteten Bildung verschiedener Hormontypen ab (GIROUD u. Mitarb.; KRACHT und SENGENHOFF), vielmehr folgt die Anordnung dieser Enzymmuster der morphologischen Unterteilung in kompakte und spongiocytäre Zellformen (GUIEYSSE), wobei letztere im Ruhezustand die äußeren und mittleren Anteile der Zona fasciculata bilden. Die Umwandlung dieser sog. Spongiocyten in kompakte Zellen in den äußeren Rindenschichten ist der morphologische Ausdruck einer cellulären Umgestaltung bei der Lipoidentspeicherung (BACHMANN). CARR sowie ASHWORTH u. Mitarb. konnten in elektronenoptischen Untersuchungen zeigen, daß bei der Stimulierung mit ACTH ein Lipoidschwund eintritt, wobei eine Zellumwandlung stattfindet und sog. kompakte Zellen nicht nur in der Zona

reticularis vorliegen, sondern auch in der Zona fasciculata. Hierbei tritt eine reichliche Entwicklung von Mikrosomen, endoplasmatischem Reticulum und zahlreichen Mitochondrien ein. Da insbesondere für die unspezifische Esterase anzunehmen ist, daß es sich um ein Mikrosomenenzym handelt, ergibt sich somit eine gute Übereinstimmung der elektronenoptischen und der histochemischen Befunde. Für die Interpretation dieser Enzymreaktionen folgt daraus, daß sie somit einen Indicator für die mit einer Mehrbelastung einhergehende cytoplasmatische Ausgestaltung darstellen, die parallel zum Lipidschwund auftritt.

Eine ähnliche Deutung ist von SYMINGTON u. Mitarb. für die Beziehung zwischen der histochemisch nachweisbaren alkalischen Phosphatase und dem RNS-Gehalt des Cytoplasmas geäußert worden. Jedoch ist die Intensitätszunahme der Alkalische-Phosphatase-Reaktion in entspeicherten Fasciculatazellen sehr viel geringer und unschärfer begrenzt als die der Unspezifische-Esterase-Reaktion. Durch den Nachweis der Steroid- 3β -Ol-Dehydrase, eines Enzyms, das auf einer frühen Stufe der Steroidsynthese wirksam wird und das in allen Zellen nachgewiesen ist, von denen eine Steroidhormon-Synthese bekannt ist (s. DEANE), ist eine weitere Möglichkeit zur Charakterisierung der funktionellen Leistungsfähigkeit von Rindenzellen gegeben. Dieses Enzym unterscheidet sich in der Verteilung grundsätzlich von der Esterase und sauren Phosphatase. Die positive Reaktion in den äußeren Rindenzonen, Glomerulosa und Fasciculata, stimmt mit den Untersuchungen von GIROUD u. Mitarb. überein. Hinsichtlich der Spezifität sind im Prinzip die Einwände von ZIMMERMANN und PEARSE zu berücksichtigen; sie läßt sich jedoch durch regelmäßige Anwendung von Kontrollversuchen, insbesondere von Kontrollsubstraten ohne verfügbare 3β -Ol-Gruppe, genügend sichern. Nicht nur die primär unterschiedliche Lokalisation von Steroid-Dehydrase und unspezifischer Esterase, sondern vor allem die ganz andere biochemische Funktion zeigen, daß stärkere Enzymreaktionen von Steroid-Dehydrase in Zellen mit Lipoidentspeicherung anders zu werten sind als das ähnliche Verhalten von unspezifischer Esterase und saurer Phosphatase. Während letztere ein Indicator für das Ausmaß der Cytoplasmaausgestaltung sind, ist die Verteilung und Intensität der Steroid-Dehydrase lediglich der Ausdruck der Kapazität eines Enzyms des Steroid-Stoffwechsels. So kann dieses Enzym auch in Zellen mit starker Lipoidspeicherung nachgewiesen werden; eine verstärkte Reaktion bei Lipoidentspeicherung ist vermutlich Ausdruck einer vergrößerten Enzymkapazität bei vermehrter Syntheseleistung. Durch diese Untersuchungen an der lipoidhaltigen und lipoidentspeicherten NNR und den Nachweis funktionsabhängiger Enzymmuster ergab sich der Ausgangspunkt für die Anwendung dieser Enzymreaktionen an Wachstumsprozessen der NNR.

Es zeigte sich, daß knotenförmiges Wachstum an der NNR im Rahmen einer Hyperplasie in zwei Formen auftritt. Bei der einen handelt es sich um das vermehrte Auftreten von sub- und intracapsulärem, knotenförmig angeordnetem Rindengewebe. Dieses ist nicht nur morphologisch nach Art der äußeren Rindenschichten aufgebaut, es verhält sich auch hinsichtlich seines Lipoidgehaltes und der Enzymreaktionen genau wie das übrige Rindengewebe. Bei weitgehender Funktionsgleichheit ist hier die knotenförmige Anordnung ausschließlich durch die Strukturbedingungen des umgebenden Bindegewebes bedingt. Ganz anders verhalten sich die bei knotiger Hyperplasie häufiger anzutreffenden intracorticalen

Rindenknotten. Die Mehrzahl dieser Knoten weicht in ihrem funktionellen Verhalten, gemessen am Lipoidgehalt und an der Enzymausstattung, vom übrigen Rindengewebe ab. Die sehr verschiedenartigen Verteilungsmuster entsprechen dabei zum Teil denen, die im Rahmen von Speicherung und Entspeicherungszuständen in der NNR vorkommen, zum Teil jedoch finden sich grundsätzliche Unterschiede. Dies trifft besonders für Befunde zu, in denen bei negativer Esterase-Reaktion eine intensive Saure-Phosphatase-Reaktion nachweisbar ist (Abb. 3). In der normalen Rinde kommen diese beiden Enzyme in der Regel gemeinsam vor. Möglicherweise hängen diese auffälligen Befunde mit einer unterschiedlichen Lokalisation von saurer Phosphatase und unspezifischer Esterase an Lysosomen und Mikrosomen zusammen; dies würde bedeuten, daß in derartigen intracorticalen Knoten das Cytoplasma eine von der übrigen Rinde abweichende Ausgestaltung aufweist. Es scheint zumindest berechtigt, hieraus auf eine Funktionsdifferenz gegenüber dem übrigen Rindenparenchym zu schließen. Dies gilt um so mehr, als die gleiche Abweichung gegenüber dem Rindengewebe auch in größeren Knotenbildungen anzutreffen ist, die nach dem allgemeinen Sprachgebrauch als Adenome zu bezeichnen sind.

Zwischen den Adenomen, die kein klinisches endokrines Krankheitsbild aufweisen, den sog. stummen Adenomen, und den endokrin aktiven findet sich enzymhistochemisch ein grundsätzlicher Unterschied. Die Mehrzahl der untersuchten Enzymreaktionen ist in den beiden endokrin aktiven Adenomen nachweisbar, dabei wechselt die Reaktionsintensität in den verschiedenen Adenomabschnitten beträchtlich (Abb. 5). Auch die gegenseitige Abhängigkeit, wie sie in der Verteilung des Lipoids und der verschiedenen Enzyme in der normalen NNR gefunden wurde (d. h. also das Enzymmuster), ist hierbei aufgehoben. Somit unterscheiden sich histochemisch die endokrin aktiven nicht nur von den stummen Adenomen, sondern auch im Verteilungsmuster von der übrigen Rinde. Diese unregelmäßige Verteilung der Enzymreaktionen ist unseres Erachtens Ausdruck des besonderen Funktionszustandes, der in diesen Adenomen vorliegt und in der überschießenden Hormonproduktion besondere Bedeutung gewinnt.

Aus den Befunden geht jedoch hervor, daß nicht nur die endokrin aktiven Adenome dem funktionellen Steuerungsmechanismus entzogen sind, sondern daß bereits kleinere knotige Hyperplasien eine Funktionsdifferenz gegenüber Rindenparenchym aufweisen. Somit ist eine begriffsmäßige Trennung von nicht mehr steuerungsfähigen Adenomen und noch gesteuerten Hyperplasien zwar von therapeutischer Bedeutung, eine wesensmäßige Abgrenzung kann aus der Funktionsdifferenz jedoch nicht abgeleitet werden.

Die histochemischen Befunde an den kleinen knotigen Neubildungen weisen darauf hin, daß diese nur zu einem kleinen Teil (soweit dies aus dem Verhalten von Lipoidgehalt und Enzymausstattung zu schließen ist) an der Hormonproduktion teilnehmen. Für den größeren Teil scheint dies nicht zuzutreffen. Hieraus würde verständlich, daß nach biochemischen Messungen (EHRICH) in hyperplastischen NNR die Hormonbildung geringer ist, als der Parenchymmenge nach zu erwarten gewesen wäre.

Unsere Befunde zeigen, daß nicht nur morphologische Übergänge zwischen einem Teil der multipel auftretenden intracorticalen Rindenknotten und größeren

Adenomen vorkommen, sondern daß auch bei Anwendung der Enzym- und Lipoidnachweise hierbei eine weitgehende Übereinstimmung besteht. Eine begriffsmäßige Grenzziehung zwischen knotiger Hyperplasie und Adenom stößt in dieser Hinsicht auf grundsätzliche Schwierigkeiten. Im Hinblick auf die zum Teil beträchtlichen Größenunterschiede ergibt sich hier die Frage, wieso nicht endokrin aktive Adenome zum Teil bis zur Größe eines Apfels heranwachsen können, obwohl sie nicht an der Hormonbildung teilnehmen.

Die histochemischen Befunde ergeben Anhaltspunkte für eine Erklärung. Es zeigt sich nämlich, daß am Rande von stummen Adenomen Zellgruppen mit kleinen, dicht gefärbten Kernen, öfter auch doppelkernige Zellen vorliegen, woraus sich der Eindruck ergibt, daß das Wachstum solcher Adenome durch Apposition am Rand, zum Teil auch entlang bindegewebiger Septen erfolgt. Im Unterschied zu den übrigen Adenomabschnitten findet sich in den Parenchymzellen dieser Randzonen eine starke Steroid-Dehydrase- und Esterase-Reaktion (Abb. 4). Somit verhalten sich diese Zellen weitgehend ähnlich wie funktions-tüchtige Zellen der übrigen Rinde. Die Schlußfolgerung liegt nahe, daß beim Wachstum am Rand solcher Adenome zuerst funktionstüchtige Zellen entwickelt werden, in denen bei weiterem Wachstum eine Funktionsänderung unter Verlust eines Teils der Enzyme im Protoplasma eintritt. Eine Beteiligung an der Hormonbildung dürfte diesen Zellen nicht zukommen. Somit wirkt der Reiz zur Hyperplasie, der auch an der übrigen Rinde zur Geltung kommt, weiter und unterhält ein stetes Wachstum im Randbereich solcher Adenome. Die gelegentliche Entwicklung großer Adenome ohne ein der Massenzunahme entsprechendes Krankheitsbild wird hieraus verständlich.

Regelmäßig fanden sich in den Nebennieren mit großen stummen Adenomen auch kleine Rindenknötchen. Da sich, wie betont, in verschiedenen Fällen fließende Übergänge zwischen kleinen Rindenknoten und größeren Adenomen bei sonst weitgehender Übereinstimmung fanden, scheinen derartige Adenome aus kleinen Rindenknoten hervorzugehen. Die Funktionsumstellung ist dabei Anlaß für das weitere Wachstum. Es erscheint wesentlich, hierauf hinzuweisen, daß z. B. von ANDERSON im Hinblick auf endokrin aktive Adenome eine wesens-mäßige Abgrenzung dahingehend vorgenommen wurde, daß NNR-Adenome in der Einzahl, knotige Hyperplasien dagegen multipel vorkämen. Es wurde hieraus gefolgert, daß endokrin aktive Adenome sich nicht aus knotigen Hyperplasien entwickelten. Für stumme Adenome trifft dies, wie gezeigt wurde, nicht zu. Unseres Erachtens ist diese Schlußfolgerung aber auch für endokrin aktive Adenome nicht haltbar. Berücksichtigt man nämlich, daß hierbei eine laufende Mehrsekretion bei mangelnder Steuerungsfähigkeit vorliegt, so tritt, wie aus zahlreichen Beobachtungen bekannt ist, eine Atrophie des übrigen Rindenparenchyms ein, so daß bei einer Untersuchung in diesem Entwicklungszustand auch eine ursprünglich vorhandene knotige Hyperplasie nicht mehr nachweisbar ist. Voll bestätigt wird diese Auffassung durch die Untersuchungen von COHEN, CHAPMAN und CASTLEMAN. Diese Autoren untersuchten Nebennieren bei Morbus Cushing und kamen hierbei zu der Ansicht, daß bei primär multipler knotiger Hyperplasie sich ein Knoten zu einem größeren Adenom entwickelt. Als Beweis hierfür werden Rückbildungsstadien kleiner knotiger Hyperplasien bei der Atrophie des übrigen Rindengewebes angeführt.

Daraus folgt, daß sich größere NNR-Adenome aus einer kleinknotigen Hyperplasie entwickeln können, die bei stummen Adenomen noch nachweisbar ist, während sie bei endokrin aktiven Adenomen einer Rückbildung unterliegt. Für die Entstehung herdförmiger Wachstumsprozesse im Rahmen einer Hyperplasie erscheint somit die Funktionsumstellung entscheidend, die bereits bei kleinknotiger Hyperplasie nachweisbar ist. Die weitere Entwicklung bis zum Adenom, sei es stumm oder endokrin aktiv, scheint dabei wesentlich von dem Grad der Funktionsänderung bestimmt zu werden. Diese Befunde dürften weitgehend erklären, warum und auf welchem Wege kleinknotige und geschwulstförmige Anpassungshyperplasien im Sinne BÜNGELERS entstehen können.

Zusammenfassung

Einige Enzyme der menschlichen Nebennierenrinde (NNR), insbesondere die unspezifische Esterase und die saure Phosphatase, weisen ein dem Lipoidgehalt entgegengesetztes funktionsabhängiges Verteilungsmuster auf. Knotige Hyperplasien treten an der NNR in zwei Formen auf: Sub- und intracapsuläre knotenförmige Neubildungen verhalten sich hinsichtlich Lipoid- und Enzymgehalt weitgehend wie die übrige Rinde, d. h. funktionsgleich; intracorticale Knotenbildungen bei Hyperplasie zeigen verschiedenartige Enzymmuster und weichen häufig auch hinsichtlich des Lipoidgehalts von der übrigen Rinde ab. Größere, nicht endokrin aktive Adenome verhalten sich ähnlich. In endokrin aktiven NNR-Adenomen finden sich stark wechselnde verschiedenartige Enzymmuster, die sowohl von dem Verhalten der normalen NNR als auch dem der nicht endokrin aktiven Adenome abweichen. Die Befunde sprechen dafür, daß für die herdförmigen Wachstumsvorgänge der NNR im Rahmen einer Hyperplasie Funktionsänderungen eine wesentliche Rolle spielen. Aus knotigen Hyperplasien können sich Adenome entwickeln. Für das weitere Wachstum sowie die funktionellen Folgen scheint der Grad der Funktionsumstellung maßgebend zu sein.

Histochemical Studies of Human Adrenals Including Nodular Cortical Hyperplasia and Adenomas

Summary

Some of the enzymes of human adrenal cortex, especially the non-specific esterase and the acid phosphatase, disclose a functionally dependent distribution pattern which is opposite to that of the lipoids. Nodular hyperplasia in the adrenal cortex occurs in two forms: 1. There are the sub- and intracapsular nodular formations, which react very similarly to the remaining cortex in regard to their content of lipoids and enzymes; that is, they are functionally alike. 2. There are the intracortical nodular formations of hyperplasia which show various enzyme patterns. Often their lipid content varies from that of the remaining cortex. Larger, endocrine inactive adenomas react similarly. In the endocrine active cortical adenomas, however, one finds different enzyme patterns of great variation which differ from that of the normal adrenal cortex, as well as from that of the non-endocrine active adenoma. The results indicate, that in

the focal growth processes of the adrenal cortex in hyperplasia functional changes play an essential role. The degree of functional alteration appears to be decisive for further growth and for the functional consequences.

Literatur

- ANDERSON, W. A. B.: Primary hyperplasia and neoplasia of the adrenal cortex. In: H. D. MOON, The adrenal cortex. New York: Hoeber Inc. 1961
- ASHWORTH, C. T., G. J. RACE and H. H. MOLLENHAUER: Study of functional activity of adrenocortical cells with electron microscopy. *Amer. J. Path.* **35**, 425 (1959).
- BACHMANN, R.: Die Nebenniere. In: W. v. MÖLLENDORFF u. W. BARGMANN, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. IV/5. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.
- BOURNE, G. H.: Aspects of the histochemistry of the adrenal cortex. In: Ciba foundation colloquia on endocrinology VIII. The human adrenal cortex, p. 1. London: Churchill Ltd. 1955.
- BÜNGELER, W.: Die Definition des Geschwulstbegriffes und die Abgrenzung der Hyperplasien gegenüber den Geschwülsten. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **35**, 10 (1951).
- Das Problem der gutartigen Geschwülste. *Münch. med. Wschr.* **105**, 121 (1963).
- CARR, J.: The ultrastructure of the human adrenal cortex before and after stimulation with ACTH. *J. Path. Bact.* **81**, 101 (1961).
- COHEN, R. B., W. B. CHAPMAN and B. CASTLEMAN: Hyperadrenocorticism (Cushing's disease): a study of surgically resected adrenal glands. *Amer. J. Path.* **35**, 537 (1959).
- DAWSON, I. M. P., J. PRYSE-DAVIES and I. M. SNAPE: The distribution of six enzyme systems and of lipid in the human and rat adrenal cortex before and after administration of steroid and ACTH, with comments on the distribution in human foetuses and in some natural disease conditions. *J. Path. Bact.* **81**, 181 (1961).
- DEANE, H. W.: The anatomy, chemistry and physiology of adrenocortical tissue. In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. XIV/1. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1962.
- DIETRICH, A., u. H. SIEGMUND: Die Nebenniere und das chromaffine System. In: F. HENKE u. O. LUBARSCH, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. VIII, S. 951. Berlin: Springer 1926.
- EDER, M.: (1) Morphologische Untersuchungen über herdförmige Epithelkörperchenhyperplasien. *Virchows Arch. path. Anat.* **334**, 301 (1961).
- (2) Experimentelle und histochemische Untersuchungen über herdförmige Hyperplasien im Epithelkörperchen. *Virchows Arch. path. Anat.* **334**, 324 (1961).
- , u. K. SCHWARZ: Die Beziehungen der Größe und Funktion der Nebennierenrinde zu Hypertonie, Herzklappenfehler und zur Herzinsuffizienz. *Klin. Wschr.* **38**, 641 (1960).
- EHRLICH, W.: Diskussionsbemerkung. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **46**, 351 (1961).
- GIROUD, J. P., J. STACHENKO and P. PILETTA. In: A. F. MÜLLER and C. M. O'CONNOR, Aldosterone. Boston: Little, Brown & Co. 1958.
- GOMORI, G.: Distribution of acid phosphatase in the tissues under normal and under pathologic conditions. *Arch. Path.* **32**, 189 (1941).
- GUÉYSSSE, A.: La capsule surrénale du cobaye. *J. Anat. (Paris)* **37**, 312 (1901).
- KRACHT, J., u. J. SENGENHOFF: Trizonale Histometrie der Nebennierenrinde. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **44**, 246 (1960).
- LANDAU, M.: Die Nebennierenrinde. Jena: Gustav Fischer 1915.
- LIEBEGOTT, G.: Die Pathologie der Nebennieren. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **36**, 21 (1953).
- MALATY, H. A., and G. H. BOURNE: The distribution of "simple" esterase in human tissues. *Acta anat. (Basel)* **21**, 249 (1954).
- PEARSE, A. G. E.: Histochemistry, theoretical and applied, 2nd edit. London: Churchill Ltd. 1960.
- SELIGMAN, A. M., and L. M. MANHEIMER: A new method for the histochemical demonstration of acid phosphatase. *J. nat. Cancer Inst.* **9**, 427 (1949).
- SELYE, H.: Stress. Montreal: 1950. Acta inc. med. publ.

- SHAMMA, A. H., J. W. GODDARD and S. C. SOMMERS: A study of the adrenal status in hypertension. *J. chron. Dis.* **8**, 587 (1958).
- SYMINGTON, T., A. R. CURRIE, R. C. CURRAU and J. N. DAVIDSON: The reaction of the adrenal cortex in conditions of stress. *Ciba foundation colloquia on endocrinology VIII. The human adrenal cortex*, p. 70. London: Churchill Ltd. 1955.
- W. P. DUGUID and J. N. DAVIDSON: Affect of exogenous corticotropin on the histochemical pattern of the human adrenal cortex and a comparison with the changes during stress. *J. clin. Endocr.* **16**, 580 (1956).
- TONUTTI, E.: Experimentelle Untersuchungen zur Pathophysiologie der Nebennierenrinde. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **36**, 123 (1953).
- WATTENBERG, L. W.: Microscopic histochemical demonstration of steroid-3 β -ol-dehydrogenase in tissue reactions. *J. Histochem. Cytochem.* **6**, 225 (1958).
- ZIMMERMANN, H., and A. G. E. PEARSE: Limitations in the histochemical demonstration of pyridine nucleotide-linked dehydrogenases ("Nothing dehydrogenase"). *J. Histochem. Cytochem.* **7**, 271 (1959).

Prof. Dr. M. EDER,
Pathol. Institut der Universität, München 15,
Thalkirchner Str. 36