

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE STRUKTUR DIE MIKROSKOPISCHE INNERVATION UND DIE CHOLINESTERASEAKTIVITÄT DER NEBENNIERE VON VÖGELN

Von

A. ÁBRAHÁM und A. STAMMER

Aus dem Institut für Allgemeine Zoologie und Biologie der Universität, Szeged
(Eingegangen am 9. März)

Mit den Problemen hinsichtlich der Struktur, der mikroskopischen Innervation und der Histochemie der Nebenniere haben sich bisher verhältnismäßig zahlreiche Forscher beschäftigt. Dennoch fällt beim Studium der diesen Fragenkomplex zusammenfassenden Arbeit von BACHMANN (4) gleich auf, dass betreffs der Struktur und Funktion dieses morphologisch und physiologisch gleichermaßen wichtigen Organs noch viele Probleme einer Lösung harren. Besonders augenfällig sind die Mängel auf dem Gebiete der Innervation und der histochemischen Untersuchungen. Diese Feststellung bezieht sich im allgemeinen auf sämtliche Nebennieren, insbesondere aber auf die der Vögel, die im Sinne der Literaturangaben sozusagen in jeder Beziehung als vernachlässigt zu betrachten ist. Es liegen allerdings einige anatomische und histologische Untersuchungen auch in dieser Richtung vor, und GIACOMINI (cit. 4) hat sogar mit dem *Golgi'schen* Verfahren auch die mikroskopische Innervation studiert, aber die feineren Innervationsverhältnisse sind mit den neueren Methoden noch von niemandem eingehend untersucht worden. In vollem Masse gilt dies auch für die histochemischen und insbesondere für die enzymatischen Untersuchungen. Es soll daher im Folgenden über die Untersuchungen berichtet werden, die wir im Laufe der vergangenen Jahre an den Nebennieren verschiedener Vögel angestellt haben, um ausser den strukturellen Verhältnissen auch die mikroskopische Innervation und die Cholinesteraseaktivität dem Verständnis näher zu bringen. Hierbei liessen wir uns auch von der Überlegung leiten, dass die vielen Fragen, die besonders hinsichtlich der Innervation der Nebenniere auch heute noch in vieler Beziehung einer Antwort harren, auf Grund von Untersuchungen an einer Tiergruppe, die auf einer niedrigeren Stufe der Phylogenie steht und über die Reptilien nahe verwandtschaftliche Beziehungen zu den niederen Wirbeltiergruppen unterhält, wesentlich leichter zu beantworten sein dürften.

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden vornehmlich an den Nebennieren der leicht zugänglichen Haustaube (*Columba domestica*), des Huhnes (*Gallus domesticus*), der Hausente (*Anas anas*), der Gans (*Anser anser*) und des Truthuhns (*Meleagris gallopavo*) vorgenommen, daneben wurden aber auch die Nebennieren der Wasserralle (*Rallus aquaticus*), der balkanischen Lachtaube (*Streptopelia decaocto*), des grauen Reiheres (*Ardea cinerea*), der Möve (*Larus ridibundus*) und der Dohle (*Colaeus monedula*) untersucht.

Das möglichst frisch entnommene Material — gewöhnlich in 10%igem neutralem Formalin fixiert — wurde nach dem Imprägnationsverfahren von Bielschowsky—Abrahám aufgearbeitet (1). Die Cholinesteraseaktivitätsbestimmungen wurden an den Nebennieren der Taube und der Dohle mit der Koelle-Friedenwald'schen Methode in der Modifikation von Coupland-Holmes (5) unter Verwendung von Acetylcholinjodid (Hoffmann-la Roche, Basel) als Substrat bei pH 6.2 und Inkubationszeiten von 6, 12, 18 und 24 Stunden vorgenommen.

Lage und Struktur

Die Nebenniere der Vögel schmiegt sich dem oberen Abschnitt der beiden vorderen Nierenlappen an und steht auf das innigste mit den Genitalien in Verbindung. Sie stellt im wesentlichen eine kleinere oder grössere oberflächliche Drüse dar, die bei sämtlichen Vögeln auffindbar und in der Regel paarig ist. MECKEL und PETTIT (cit. 4) bringen Angaben über die Variationen bezgl. des Ausmasses, sowie der Gestalt und Lage dieses Organs. Wir können diesen Angaben nur beipflichten und hinzufügen, dass nicht nur bei den verschiedenen Arten, sondern auch innerhalb dieser individuell starke Abweichungen in Bezug auf Lage und Umfang der Nebennieren vorliegen. Daneben sind aber auch Abweichungen in der Anatomie je nach Alter und Geschlecht zu verzeichnen. Noch deutlicher treten die Unterschiede in der histologischen Struktur und innerhalb dieser bzgl. der Verteilung der für die Nebenniere der Vögel im allgemeinen charakteristischen beiden Substanzen, der adrenalen (Mark-) und der interrenalen (Rinden-) Substanz, zutage, die sich bei den einzelnen Vogelarten sehr verschieden gestalten kann. Es gibt Vögel bei denen die interrenale, und andere, bei denen die adrenale Substanz vorwiegt, wie auch aus den Untersuchungen von HARTMANN, ALBERTI und BROWNEL (cit. 4) hervorgeht. Diesen Angaben möchten wir hinzufügen, dass nach unseren Befunden die Verteilung der beiden Substanzen im Laufe des individuellen Lebens auch innerhalb ein- und derselben Art variiert. Während bei jüngeren Exemplaren die beiden Substanzen nahezu proportional verteilt sind, ist bei den entwickelteren entweder die adrenale oder aber die interrenale Substanz im Übergewicht. Auch hinsichtlich der Anordnung der beiden Substanzen ergeben sich Abweichungen: während in manchen Fällen (Truthuhn) direkt unterhalb der Nierenkapsel eine sozusagen vollkommen zusammenhängende interrenale Substanz zu beobachten ist, dominiert in anderen (Wasserralle und Dohle) in den oberflächlichen Regionen die adrenale Substanz. Übrigens scheint ein gewisser Zusammenhang zwischen der Proportion von adreneraler bzw. interrenaler Substanz und den periglandulären Ganglien bzw. ihrer Zahl und Lage zu bestehen. Um die Nebennieren und auch innerhalb ihrer Substanz finden sich nämlich bei den Vögeln zahlreiche, aber nur mikroskopisch

nachweisbare Ganglien. Es handelt sich dabei um ein dem Geflechsystem des *Nervus splanchnicus* und dem *Plexus genitalis* angehörendes Gangliensystem, über dessen Verbindungsverhältnisse selbst im binokularen Präpariermikroskop kein entsprechendes Bild erhalten werden kann. Über die Struktur der Ganglien geben lediglich mikroskopische Untersuchungen Auskunft.

Betreffs Zahl, Grösse und Anordnung der periglandulären Ganglien fanden wir, dass dort, wo mehrere kleine Ganglien vorliegen (Huhn, grauer Reiher, Dohle), die adrenale Substanz auffallend entwickelt ist und auch unterhalb der Bindegewebskapsel zu dominieren pflegt, ja sogar einen wirklichen, zusammenhängenden äusseren Ring bildet. Im mittleren Anteil ist aber auch hier eine proportionale Verteilung der beiden Substanzen festzustellen. Bei denjenigen Vögeln, bei denen sich in den Nebennieren nur ein oder wenige gut entwickelte Ganglien befinden, ist meistens an der äusseren Rändern der Nebenniere, und in der ganzen Substanz überhaupt, die interrenale Substanz die vorherrschende. Besonders deutlich zeigt sich dies im Falle des Truthuhnes, wo die Nebennierensubstanz in Höhe des oberen Drittels durch ein wohlentwickeltes, nahezu halbmondförmiges Ganglion in zwei Teile geteilt wird, von dem aus Nerven in die Gewebelemente der Nebenniere treten. Ähnliche Verhältnisse ergeben sich bei der Ente, der Gans, der Möve, der Wasserralle und der balkanischen Lachtaube.

Mikroskopische Innervation

Die beiden Aufbauelemente der Nebenniere sind auch in imprägnierten Bildern sehr wohl voneinander zu unterscheiden. Die adrenale Substanz, deren Zellen sich in imprägnierten Präparaten stark färben und charakteristische Formen zeigen, bilden zwischen den ein weniger typisches, zuweilen granuliertes interrenales System aufbauenden Trabekeln ein auf das innigste zusammenhängendes Trabekularsystem.

Was die Innervation anbetrifft, zeigt schon Betrachtung der Präparate bei kleiner Vergrösserung den aussergewöhnlichen Reichtum der adrenalen Substanz an Nervenfasern, während die interrenale Substanz sich in ihrer ganzen Ausdehnung als nervenfrei erweist (*Abb. 1**). Die Nervenstämme, welche die adrenale Substanz sozusagen völlig verdecken, bilden auf den miteinander zusammenhängenden, mehr oder minder dicken Zellbündeln sehr reiche Geflechsysteme. In diesen Geflechsystemen, sowie auch in den kleineren oder grösseren Nervenstämmen nehmen am Aufbau lediglich marklose, glattrandige Fasern teil. Es gibt dickere und dünnere Fasern, aber ihre ganze Erscheinung und Struktur sprechen dafür, dass sie ausnahmslos dem vegetativen Nervensystem angehören (*Abb. 2*). Die Fasern der sich den Endsystemen der Nervenstämme anschliessenden Geflechte umspinnen sozusagen die Zellen der adrenalen Substanz; welcher innere Kontakt aber zwischen den Endfasern und den Zellen besteht, kann mit voller Ent-

* Die Zeichnungen hat der wissenschaftliche Mitarbeiter des Instituts, G. MRÁZ, angefertigt, dem wir für seine sorgfältige Arbeit auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

schiedenheit nicht einmal in den bestimprägnierten Präparaten festgestellt werden (Abb. 3). Jedenfalls muss als Tatsache gebucht werden, dass stellenweise kleinere oder grössere Endköpfchen vorkommen, die für eine solche Natur der Endigungen sprechen. Natürlich berechtigt die geringe Zahl derartiger Endigungen nicht dazu, in dieser Hinsicht einen durch objektive



1. *Rallus aquaticus*: Nebenniere. Tangentialer Längsschnitt. a) Marsubstanz, b) Rindensubstanz, c) Nervengeflecht, d) Nervenbündel, e) Nervenfaser. Vergr. 280 x. Photographisch auf die Hälfte verkleinert.

Tatsachen gestützten Standpunkt einzunehmen. Da aber an anderen Gebieten, und zwar an solchen, die vom vegetativen Nervensystem innerviert sind, entschieden festgestellt werden konnte, dass die Endfasern des vegetativen Nervensystems sich mittels kleineren oder grösseren Ringen oder Endköpfchen den verschiedenen Zellen anschliessen, zweifeln wir nicht daran, dass der Kontakt zwischen Nervenfaser und adrenalen Zellen ebenfalls durch ähnliche Nervenendigungen hervorgebracht wird, die entweder auf

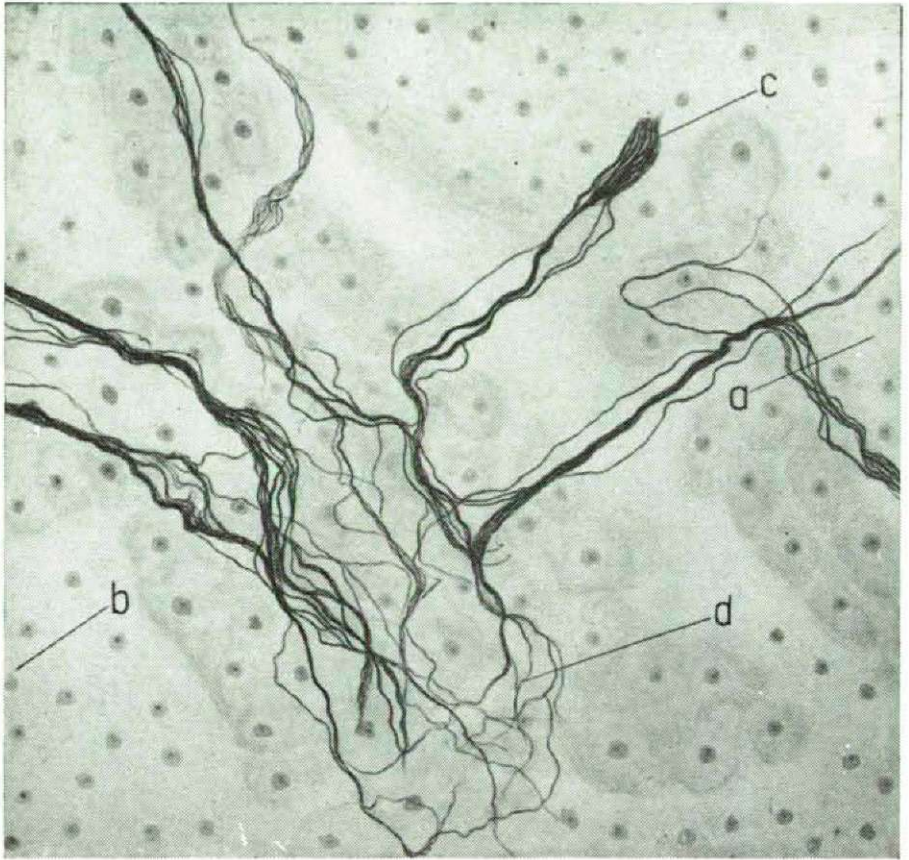
der Zelloberfläche oder in irgendwelchen Vertiefungen des Zellkörpers Platz nehmen (3). Bezüglich der Frage, ob die Endigungen an der Oberfläche einer Zelle massenhaft als Reizüberträger funktionieren, oder ob eventuell jede Zelle nur über eine Endigung verfügt, lässt sich im vorliegenden Falle



2. *Ardea cinerea*: Innervation der Nebenniere. a) Marsubstanz, b) Rindensubstanz, c) Nervenstamm, d) Nervenfasern, e) Nervengeflecht. Vergr. 280 x. Photographisch auf die Hälfte verkleinert.

noch kein endgültiger Standpunkt einnehmen. Die Untersuchungen werden jedenfalls fortgesetzt und zwar um so mehr, als wir die Zusammenhänge zwischen der Nebenniere der Vögel und ihrem Instinktleben im allgemeinen als positiv bewerten und überdies auch für wahrscheinlich halten, dass das Nebennierensystem der Vögel mitsamt seinen Nerven-elementen sogar auch jahreszeitlichen Veränderungen unterworfen ist. Es soll aber im Folgenden nicht nur dem innigen Verhältnis zwischen der Nebenniere und dem Nervensystem der Vögel Aufmerksamkeit gewidmet werden, es sollen auch die

ähnlichen Nervenverbindungen der niederen Wirbeltiere untersucht werden, da wir der Ansicht sind, dass gründliche neurohistologische und histochemische Untersuchungen dieser Beziehungen weitgehend zur Entscheidung der strittigen Fragen beitragen könnten, welche in Bezug auf die Struktur, die



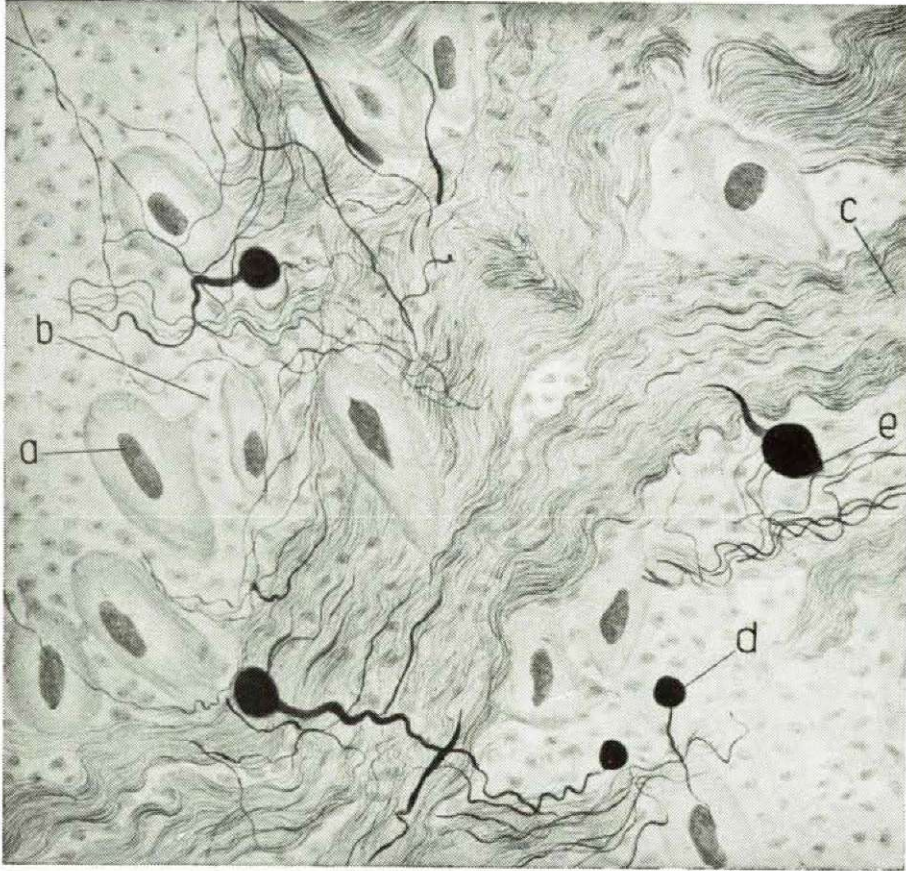
3. *Rallus aquaticus*: Innervation der Nebenniere. a) Marksubstanz, b) Rindensubstanz, c) Nervenstamm, d) Nervengeflecht. Vergr. 600 x. Photographisch auf die Hälfte verkleinert.

Innervation und die Histochemie der Nebenniere in vieler Hinsicht bestehen und die auch trotz der mannigfaltigen Untersuchungen an der Säugetiernebnenniere nicht überzeugend beantwortet werden können.

Ganglien

Auf der Suche nach dem Ursprung der die Nebennierengewebe versorgenden Nerven müssen auch die auf der Nebennierenkapsel liegenden, bzw. im Nebennierengewebe eingebetteten Ganglien mit in Augenschein genommen

werden. Die ersteren stellen — histologisch gesehen — aus multipolaren Nervenzellen aufgebaute, typische vegetative Ganglien dar. Die aus den Zellen austretenden Fortsätze sammeln sich bereits im Innern der Ganglien und treten zu mehreren, in Gestalt dünner postganglionärer Nerven an die Nebennierensubstanz heran. Die Zellen haben gewöhnlich einen Kern; die



4. *Anas anas*: Nervenganglion aus der Umgebung der Nebenniere. a) Nervenzelle, b) Nervenzellfortsatz, c) Nervenbündel, d) Synapse, e) Endkölbchen. Vergr. 600 x. Photographisch auf die Hälfte verkleinert.

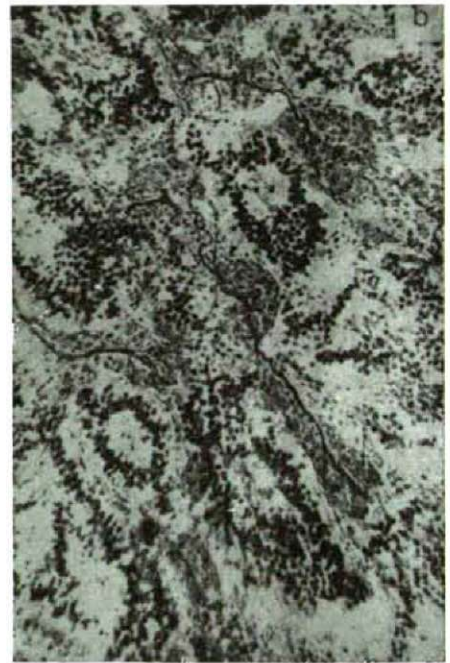
vereinzelt in Erscheinung tretenden zweikernigen Formen halten wir für Entwicklungsanomalien. Um die Zellen herum wird das Hüllplasmodium, dessen Kerne scharf hervortreten, deutlich sichtbar. In diesen Ganglien finden sich reichliche Synapsen. Innerhalb der Zellen oder im interzellulären Bindegewebe werden häufig beträchtliche Endkolben sichtbar. Diese Endformen erinnern an die Synapsen, welche ÁBRAHÁM (2) und KIRSCHÉ (5) aus den lumbalen Ganglien des Menschen mitteilten. Unter den Synapsen der Nebennierenganglien befinden sich oft auch Endsohlen von auffallender

Grösse, die zusammen mit ihren Endfasern sehr stark argentophil sind (Abb. 4). Da wir fanden, dass die *Vagusfasern* sich derart stark zu imprägnieren pflegen, glauben wir in diesen eigentümlich gut zu imprägnierenden Synapsen Endigungsformen der präganglionären *Vagusfasern* sehen zu dürfen.

Die zweite Gruppe der Ganglien bilden diejenigen, welche die Bindegewebshülle der Nebenniere durchbrechen oder tiefer unter der Kapsel Platz nehmen; sie unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich ihrer Lage von den periglandulären ähnlichen Gebilden. Auch hier handelt es sich vorwiegend um multipolare Zellen. Zwischen den Zellgruppen ziehen kräftige Faserbündel, die einen Teil der Nervenfasern für die adrenale Substanz liefern. In diesen Ganglien finden sich weniger Synapsen und auch die Endkolben sind weniger gross.

Cholinesteraseaktivität

Im Interesse der Auswertung der neurohistologischen Bilder haben wir Untersuchungen auch über die Cholinesteraseaktivität der Nebenniere angestellt, die folgende Ergebnisse zeitigten. Die Bindegewebkapsel der Nebenniere, sowie die interrenalen und die adrenalen Zellen geben eine negative Reaktion. Dass die Ergebnisse bei den letzteren nach 24-stündiger Inkubationszeit



5. *Columba domestica*: Nebenniere. Tangentialer Längsschnitt. a) imprägnierte Nervenfasern, b) Cholinesteraseaktivität aufweisende Nervenfasern. Mikrophotogramm. Vergr. 100 x.

positiv ausfallen, dürfte der Diffusion zuzuschreiben sein. Nur die die adrenale Substanz versorgenden Nervenfasern und die Nervenzellen der Ganglien zeigen stark positive Acetylcholinesteraseaktivität. Am stärksten fiel die Reaktion nach 18-stündiger Inkubationszeit aus, als auf die Wirkung des Acetylcholinjodids die Nerven und die Ganglienzellen in der mit den imprägnierten Bildern vollkommen übereinstimmenden Form erschienen (Abb. 5). Es konnte auch deutlich festgestellt werden, dass die aus den Ganglien der Nebenniere austretenden dickeren Nervenstämme aus cholinergen Nervenfasern aufgebaut sind. Cholinerge Fasern ziehen nur in der adrenalen Substanz. Dieser Befund stimmt mit dem nach der Imprägnierung erhaltenen überein, dass nämlich die interrenale Substanz sich als nervenfrei erwies.

Vergleicht man Zahl und Dicke der in der adrenalen Substanz gefundenen cholinergen Fasern mit der Zahl und Dicke der mittels Silberimprägnation hieselbst nachweisbaren Nervenfasern, so macht sich alsbald ein deutlicher Unterschied bemerkbar. Die cholinergen Nervenfasern sind in wesentlich geringerer Zahl vorhanden und ihr Durchmesser ist etwas grösser als der der mittels Silberimprägnation nachgewiesenen Nervenfasern. Noch augenfälliger wird das Bild, wenn man bedenkt, dass ein gerade umgekehrtes Verhältnis zu erwarten wäre, da der Cholinesterasenachweis



- 6a) *Columba domestica*: Ganglion aus der Umgebung der Nebenniere. Cholinesteraseaktivität. Mikrophotogramm. Vergr. 150 x.
 6b) *Rallus aquaticus*: Ganglion aus der Umgebung der Nebenniere, imprägniert. Mikrophotogramm. Vergr. 150 x.

an 20—25 μ dicken, die mit Silber sichtbar gemachten Fasern aber nur an 10—15 μ dicken Schnitten untersucht wurde. Die Ursache für diese hochgradigen Abweichungen ist in den histochemischen Methoden und in der vielumstrittenen Verwertbarkeit der mit ihnen erhaltenen Bilder zu suchen.

Die Nervenzellen der Nebennierenganglien zeigen eine stark positive Aktivität (Abb. 6), welche sich deutlich sichtbar auf das ganze Neuroplasma erstreckt. Nur in Richtung des Zellkernes sind helle Stellen wahrzunehmen. Die Fortsätze der Ganglienzellen werden aber durch das Acetylcholinjodid nur ganz ausnahmsweise sichtbar gemacht, was wahrscheinlich beweist, dass die Mehrzahl der Ganglienzellen dem sympathischen Nervensystem angehört. An der Ganglienzellenoberfläche treten bis zu 4—8 solcher aktiver Gebiete in Erscheinung, was beweist, dass die Zahl der Synapsen auf den Ganglienzellen eine weit höhere ist, als wir sie in unseren neurohistologischen Präparaten nachweisen können.

Zusammenfassung

Die Ergebnisse der Untersuchungen an den Nebennieren der Vögel mit dem *Bielschowsky—Abraham'schen* und dem *Coupland—Holmes'schen* Verfahren lassen sich folgendermassen zusammenfassen.

1. In den Nebennieren der Vögel ist die interrenale und die adrenale Substanz miteinander vermischt vorhanden. Beide Substanzen bestehen aus dickeren und dünneren Zellsträngen, welche in Gestalt verschieden dicker Trabekel kreuz und quer über- und untereinander herziehen.

2. Lage und Ausdehnung der beiden Substanzen machen innerhalb der einzelnen Arten auch im Laufe des individuellen Lebens Veränderungen durch. Während manchmal die interrenale Substanz grössere Gebiete unmittelbar unter der Kapsel einnimmt, liegen in anderen Fällen die Zellen der adrenalen Substanz an ebendieser Stelle gruppiert.

3. Um die Nebennieren, aber auch in deren Substanz selbst, liegen kleinere oder grössere Ganglien, die — ihrer Struktur nach zu urteilen — dem sympathischen Nervensystem angehören. Die Ganglien enthalten reichlich Synapsen.

4. Nach den neurohistologischen Untersuchungen ist die adrenale Substanz überaus reich an Nervenfasern, während die interrenale sich als vollkommen nervenfrei erweist.

5. In der adrenalen Substanz verlaufen Nervenstämmchen, -bündel und -geflechte, die sämtlich sowohl dickere als auch dünnere Fasern enthalten, welche aber stets marklose Elemente darstellen.

6. Die aus den reich verzweigenden Fasern hervorgehenden, feinen Endäste umspinnen die Zellen der adrenalen Substanz und stellenweise treten sogar Endigungen in Erscheinung. Wahrscheinlich handelt es sich bei diesen letzteren um diejenigen Endorgane, welche den Kontakt zwischen den Zellen der adrenalen Substanz und dem Nervensystem herstellen.

7. Im Laufe der Untersuchungen über die Cholinesteraseaktivität zeigte die Bindegewebskapsel, sowie auch die interrenalen und adrenalen Zellen eine negative Reaktion, während die die adrenale Substanz versorgenden Nervenfasern und die Ganglienzellen eine stark positive Acetylcholinesteraseaktivität feststellen liessen.

Schrifttum

- (1) *Abraham, A.*: Die Innervation der Blutgefässe. *Acta Biol. Acad. Scient. Hung.* **4**, 69—160 (1953).
- (2) *Abraham, A.*: Blood pressure and peripheral nervous system. *Acta Biol. Acad. Scient. Hung.* **4**, 307—365 (1953).

- (3) *Ábrahám, Á., Stammer, A.*: Die mikroskopische Innervation des Vogelherzens. *Acta Biol. Univ. Szeged* **3**, 247—274 (1957).
- (4) *Bachmann, R.*: Die Nebenniere. in Möllendorff, W.: *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. **6/5**, 74—90 Berlin—Göttingen—Heidelberg (1954).
- (5) *Coupland, R. E., Holmes, R. L.*: The use of cholinesterase techniques for the demonstration of peripheral nervous structures. *Quart. J. micr. Sci.* **98**, 327—331 (1957).
- (6) *Kirsche, W.*: Synaptische Formationen in den Ganglia lumbalia vom Menschen einschliesslich Bemerkungen über den heutigen Stand der Neuronenlehre. *Zeitschr. f. mikr. anat. Forsch.* **64**, 707—772 (1958),

Anschrift der Verfasser: Professor Dr. A. ÁBRAHÁM, und Forscherin Dr. A. STAMMER, Institut für Allgemeine Zoologie und Biologie der Universität, Tánacsics M. 2., Szeged (Ungarn).