

## Die byniere van die Afrika-olifant (*Loxodonta africana*): enkele waarnemings.

### 2. Die zona reticularis, medullêre kapsel, F-laag en medulla

F.G.W. Strassberger\*

Departement Dermatologie, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

M.M. Nel

Afdeling Onderwysontwikkeling, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

P.P.C. Nel

Departement Anatomie en Selmorfologie, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

*Ontvang, 1 Oktober 1993; aanvaar 2 Junie 1994*

#### UITTREKSEL

Die struktuur van die zona reticularis, medullêre kapsel, F-laag en medulla van die Afrika-olifant (*Loxodonta africana*) word beskryf. Die rangskikking van die selle in die zona reticularis is soos beskryf vir ander soogdiere. Drie tipes selle is hier waargeneem met organelle soos beskryf vir ander soogdiere. Die ultrastruktur van die selle van die F-laag is tipes dié van selle wat steroïed sekreteer. Die medulla toon twee tipes selle en kom in breeë trekke ooreen met die medullêre selle van ander soogdiere.

#### ABSTRACT

#### *The adrenals of the African elephant (*Loxodonta africana*): A few observations. 2. The zona reticularis, medullary capsule, F-zone and medulla*

*The structure of the zona reticularis, medullary capsule, F-zone and medulla of the African elephant (*Loxodonta africana*) is described. Three types of cells, arranged as described in other mammals, are found in the zona reticularis. Organelles in this zone are as described for other cells that secrete steroids. The ultrastructure of the cells in the F-zone is very similar to that of cells that secrete steroids. Two types of cells, roughly similar to those of other mammals, are found in the medulla.*

#### MATERIAAL EN TEGNIEK

Die weefsel vir hierdie studie is in samewerking met die Nasionale Parkeraad versamel en wel tydens die jaarlikse olifantuitdunningsprogram in die Nasionale Krugerwildtuin. Die olifante is vooraf verdoof met suksineldicholien waarna hulle met 'n enkele skoot in die brein gedood is.

Weefsel van albei die byniere van sewe koeie en twee bulle is geneem. Dwarssneë van die bynier, tussen 2 en 3 mm dik is in Bouin se vloeistof gefikseer. Hierdie weefsel is verwerk vir ligmikroskopiese ondersoek volgens standaardmetodes.<sup>6</sup> Die verwerkte weefsel is ingebied in Paraplast Plus waarna sneë van 5 µm dik met 'n Reichert-Jung-draaimikrotoom gesny is. Na hidrasie is die sneë met verskillende kleurmetodes gekleur, naamlik Mayer se

hematoksilien en alkoholiese eosien, Masson se trichroom-metode vir kollageen, aldehydefuchsién, orseien vir elastiese vesels en Heidenhain se ysterhematoksilien vir spierselle en siderofiliese selle.<sup>6</sup>

Ander stukkies weefsel, geneem uit die volle dikte van albei die byniere, ongeveer 1 mm x 1,5 mm x 10 mm is gefikseer in gebufferde glutaraaldehyd soos beskryf deur Sabatini, Bensch en Barnett.<sup>7</sup> Daarna is die weefsel gepostfikseer volgens die metode van Millonig.<sup>8</sup> Die weefsel is vervolgens deur middel van gegradeerde etanol gedehidreer, waarna dit in drie ruilings van propyleenoksied geplaas is.<sup>7</sup> Die weefsel is daarna in Araldite 502 ingebed volgens die metode van Luft.<sup>9</sup>

'n Reichert OM U3 ultramikrotoom is gebruik om dun sneë (0,5 tot 1,0 µm) en ultradun sneë (60 tot 90 nm) te sny waarna die dun sneë volgens Pease<sup>10</sup> se metode met

\* Outeur aan wie korrespondensie gerig kan word.

toluïdienblou gekleur is. Die dun sneë is ligmikroskopies bestudeer ten einde die weefsel te oriënteer. Die ultradun sneë is op kopersifflies geplaas en met uranielasetaat gekleur volgens die metode van Gibbons en Grimstone.<sup>11</sup> Daarna is dit met Reynolds se loodsitraat gekleur, soos deur Venable en Coggeshall<sup>12</sup> beskryf. Die sneë is met 'n Phillips EM 201 transmissie-elektronmikroskoop by 'n hoogspanning van 80 kV bestudeer.

## BESKRYWING

### Algemeen

Die byniere van die olifant lê retroperitoneaal op die dorsale abdominale wand. Mediaal van beide kliere lê die abdominale aorta en die vena cava caudalis. Die vorm van die byniere is langwerpig en dorsoventraal aangeplat. Die dorsale deel is breër, terwyl die ventrale deel 'n skerper rand vertoon. Aan die koudale end kom 'n verdikking voor, gedeeltelik veroorsaak deur 'n mediale horing van uitsteeksel (fig. 1A).

'n Bindweefselkapsel omring beide byniere intiem. Die kliere bestaan uit 'n buitenste korteks en 'n sentraalgeleë medulla. Tussen die korteks en die medulla kom 'n verdere bindweefsellaaag, die medullêre kapsel, voor. Tussen hierdie kapsel en die medulla kom 'n verdere laag, bestaande uit kortikale selle, voor. Laasgenoemde staan bekend as die F-laag. Die korteks word in drie lae verdeel, naamlik die zonaë reticularis, fasciculata en glomerulosa, met die zona glomerulosa wat aan die buitekant lê en die zona reticularis aan die binnekant. Die medullêre kapsel skei die medulla en die korteks (fig. 1B en 1C). Groot hoeveelhede bindweefsel kom dwarsdeur die korteks en die medulla voor. Die selle van die korteks bevat volop lipied, terwyl bloedvate ook volop is, veral in die medulla.

### Zona reticularis

Hierdie relatief dun sone kom tussen die zona fasciculata en die medullêre kapsel voor (fig. 2A) en is moeilik onderskeibaar van die binneste deel van die zona fasciculata. Die selle kom voor in anastomerende koorde wat in geen patroon gerangskik is nie. Rondom die selkoorde word 'n netwerk sinusoïede gevind (fig. 2B). Volop bindweefsel kom in dié sone voor.

Die selle is kleiner as die van die zona fasciculata met minder lipied (fig. 2B) en kleur ook effens donkerder as die selle van die zona fasciculata. Ronde tot ovaalvormige mitochondria van verskillende groottes, lisosome, volop agranulêre endoplasmatische retikula en 'n aantal vry ribosome kom voor (fig. 3A).

Die kerne is eksentries geleë, effens kleiner as dié van die zona fasciculata, kleur sterk basofilies en bevat prominente nukleoli en digte chromatien (fig. 2B).

Op grond van die intensiteit waarmee die selkerne met basiese kleurstowwe kleur, kan drie tipes sells onderskei word. Die eerste tipe (R1) kleur baie donker, die tweede tipe (R2) kleur lichter as tipe R1 maar donkerder as tipe R3 (fig. 2C).

### Medullêre kapsel

Tussen die zona reticularis en die F-laag kom 'n duidelike bindweefsellaaag voor (fig. 2A). Met spesiale kleuring (Masson-trichroom) is waargeneem dat hierdie bindweefsel

hoofsaaklik bestaan uit kollageenvesels wat parallel met die oppervlak van die klier lê.

### F-laag

Tussen die medullêre kapsel en die medulla kom 'n onreëlmaterige laag selle voor in ligmikroskopiese voorkoms baie na aan die selle van die buitenste laag van die zona fasciculata (fig. 2A). Hierdie F-laag is nie oral ewe dik nie, maar is 'n konstante kenmerk by die byniere wat ondersoek is.

Die selle kom voor in groepies van twee tot ses met volop bindweefsel tussenin (fig. 2D). Hierdie ronde tot ovaalvormige selle is nie alleen groter as dié van die zona reticularis nie, maar is ook anders gerangskik. Minder bindweefsel kom ook tussen hierdie selle voor as tussen die selle van die zona reticularis (fig. 2C en 2D). Twee tipes parenkiemselle kom in die F-laag voor (fig. 2D). Die kerne van die eerste tipe (tipe A1) is kleiner en onreëlmaterig in vorm as dié van die tweede tipe (tipe A2) wat rond is (fig. 2D en fig. 3C). Albei tipes selle se kerne vertoon lig (fig. 2D) en toon chromatien (fig. 3B en 3C). Die organelle in die tipe A1-sel toon duidelike tekens van outolise (fig. 3B).

Lipieddruppels van verskillende groottes, volop ronde tot ovaalvormige mitochondria met tubulêre cristae, 'n klein aantal vry ribosome, lisosome en volop agranulêre endoplasmatische retikula kan in die sitoplasma waargeneem word (fig. 3B en 3C). Aan die binnekant van die F-laag kom volop bloedvate voor (fig. 4A).

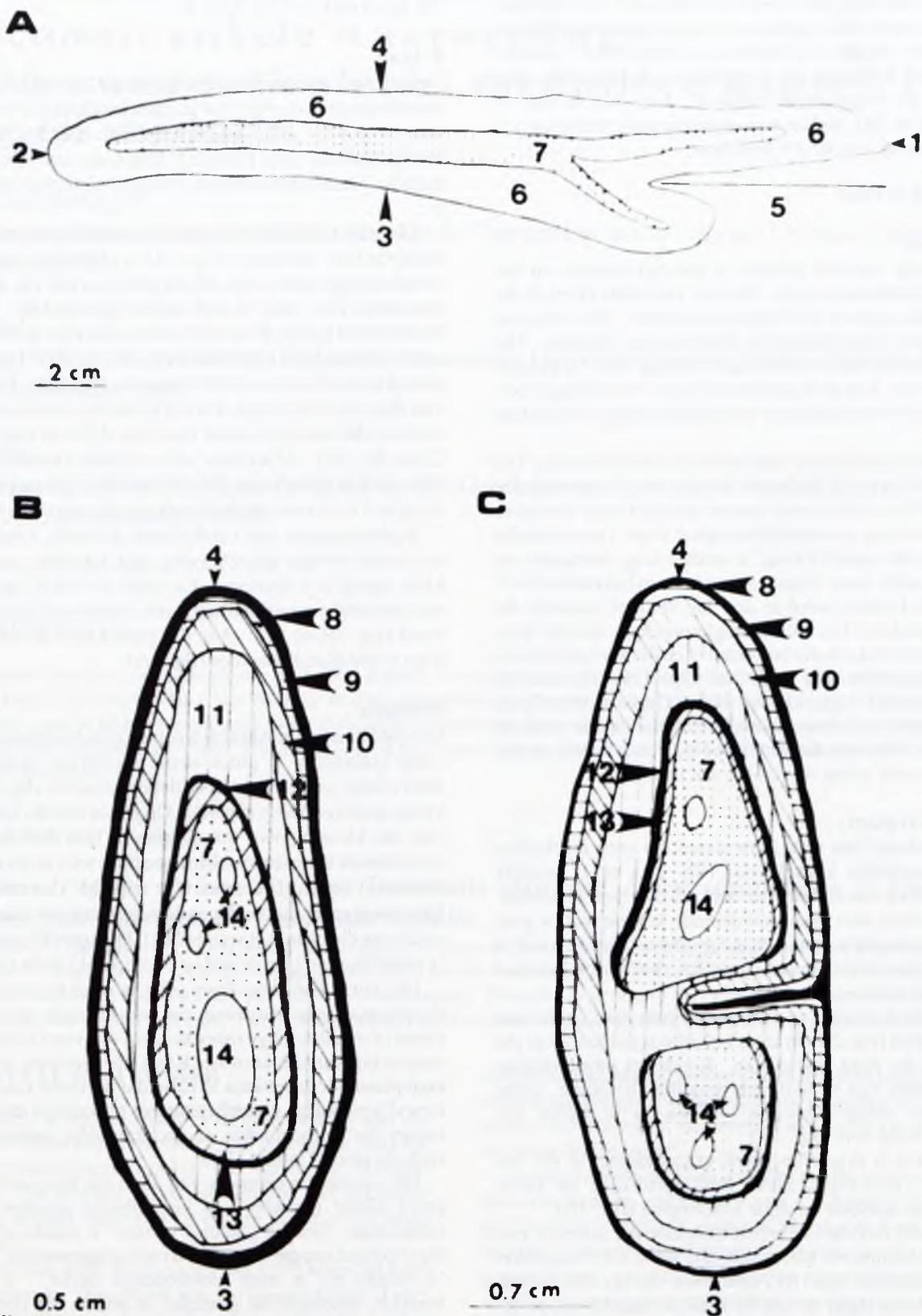
### Medulla

Die onreëlmaterige, medullêre weefsel bevat baie bindweefsel, veral kollagen, 'n groot aantal bloedvate, hoofsaaklik dikwandige venes van verskillende groottes (fig. 4A) en volop senuweevesels (fig. 4B). Op grond van die intensiteit van die kleuring van die sitoplasma van die selle met verskillende kleurstowwe kan twee tipes selle in die medulla onderskei word. Die eerste tipe (tipe M1) se sitoplasma kleur donkerder met onder andere hematoksilien en eosien as dié van die tweede tipe (tipe M2). Die tipe M1-selle vorm 'n onreëlmaterige laag of skil om die tipe M2-selle (fig. 4A).

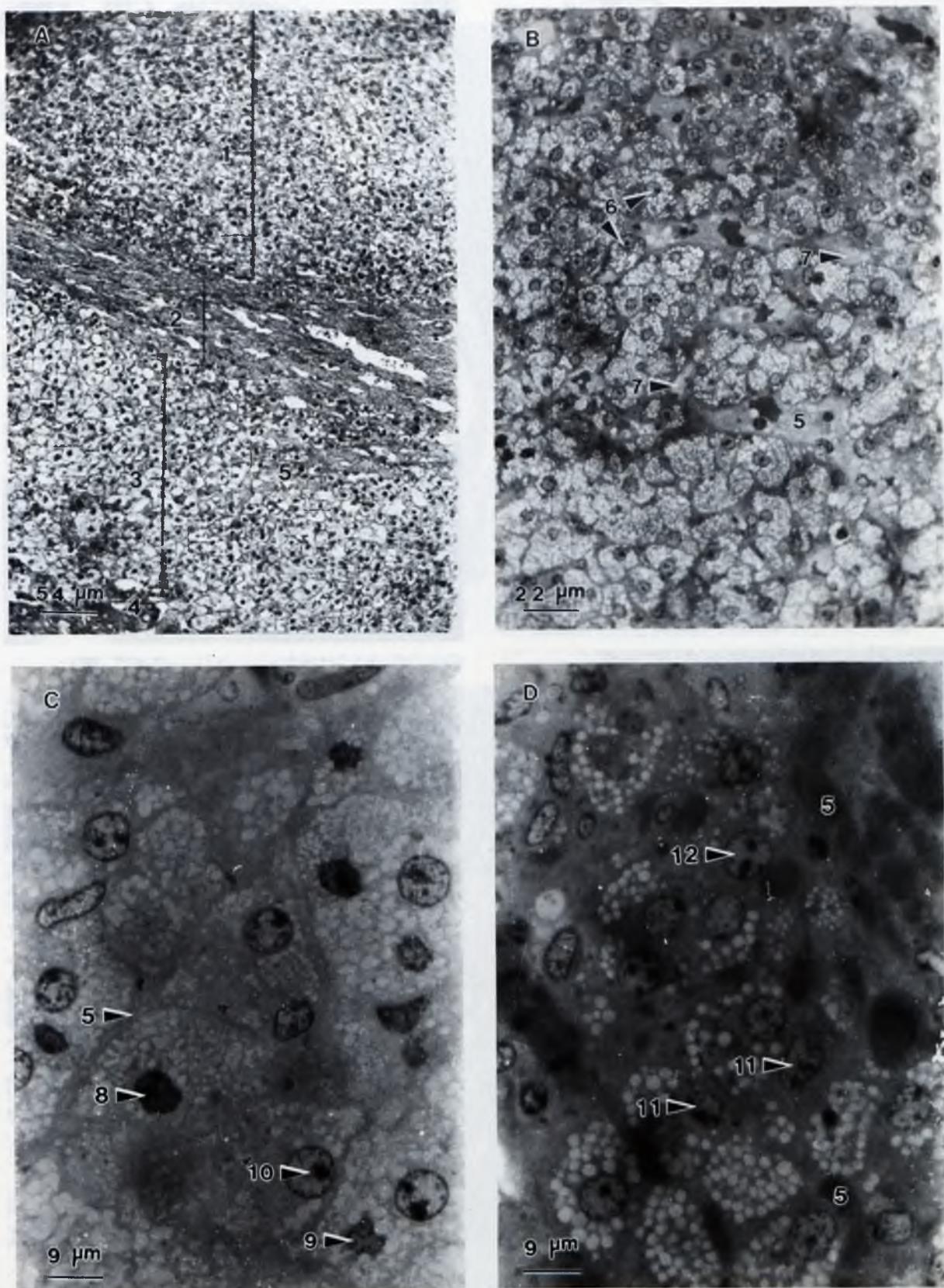
Die vorm van albei tipes selle is rond tot ovaal. Die sitoplasma bevat lisosome van verskillende groottes en ronde of ovaalvormige mitochondria wat veral volop in die omgewing van die kern is. Klein hoeveelhede granulêre endoplasmatische retikula lê nabij die periferie van die sel, terwyl agranulêre endoplasmatische retikula in die gebied tussen die mitochondria en die granulêre endoplastiese retikula gevind is (fig. 3D).

Die uitstaande kenmerk van albei die tipes selle is die groot aantal granules van verskillende groottes in die sitoplasma. Van die granules vertoon 'n minder elektron-digte gebied om die periferie, terwyl ander verdeel word in 'n minder en 'n meer elektrondigte helfte. 'n Aantal vesikels, moontlik leë granules, is ook in die sitoplasma waargeneem. Desmosome kom ook voor (fig. 3D).

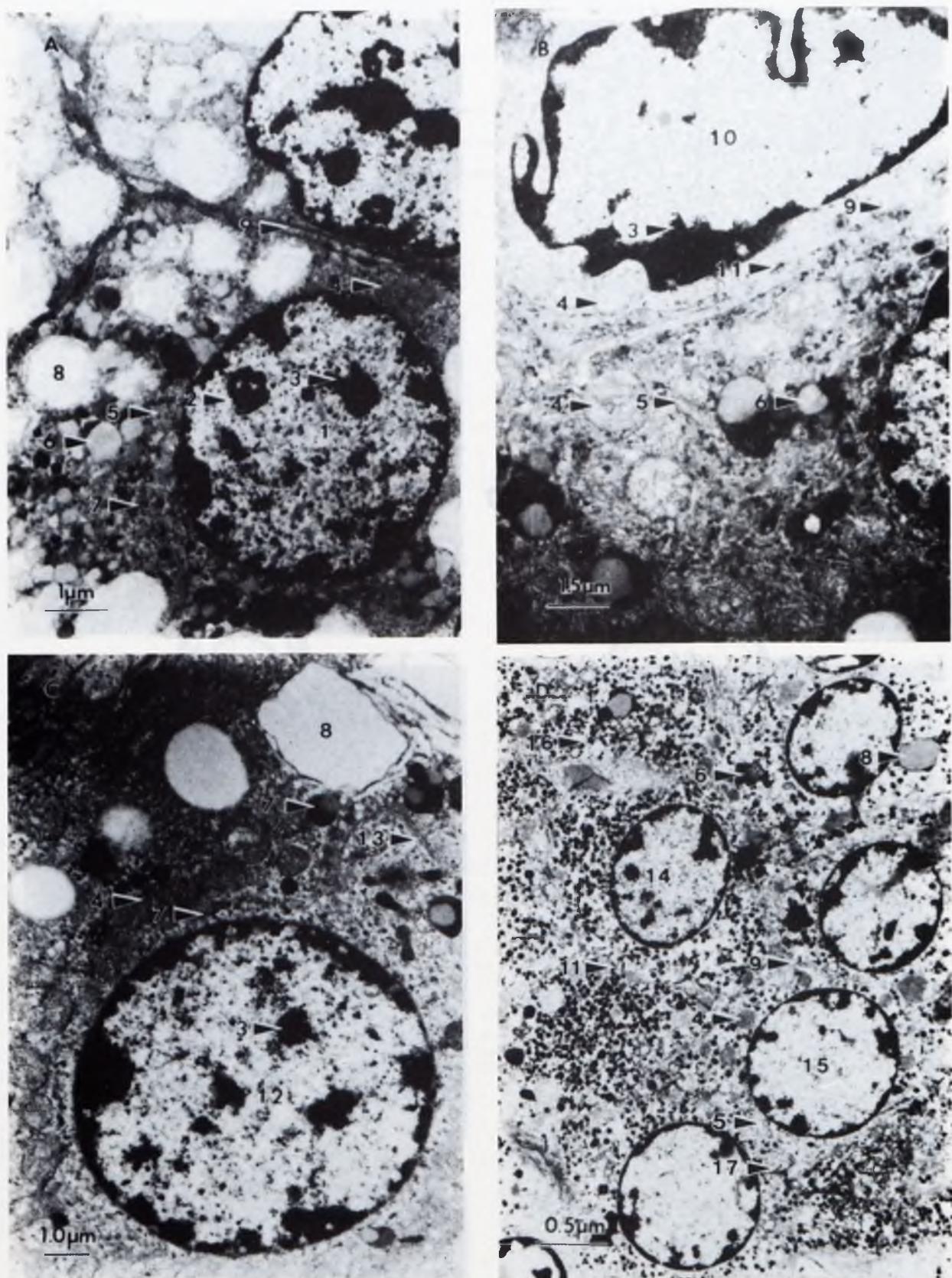
Die kerne van die tipe M2-selle is groter as die van die tipe M1-sel. Beide tipe selle se eksentriese kerne met onreëlmaterige buitelyne vertoon elektronlig en bevat min perifeergeleë chromatien, terwyl geen nukleolus sigbaar is nie (fig. 3D).



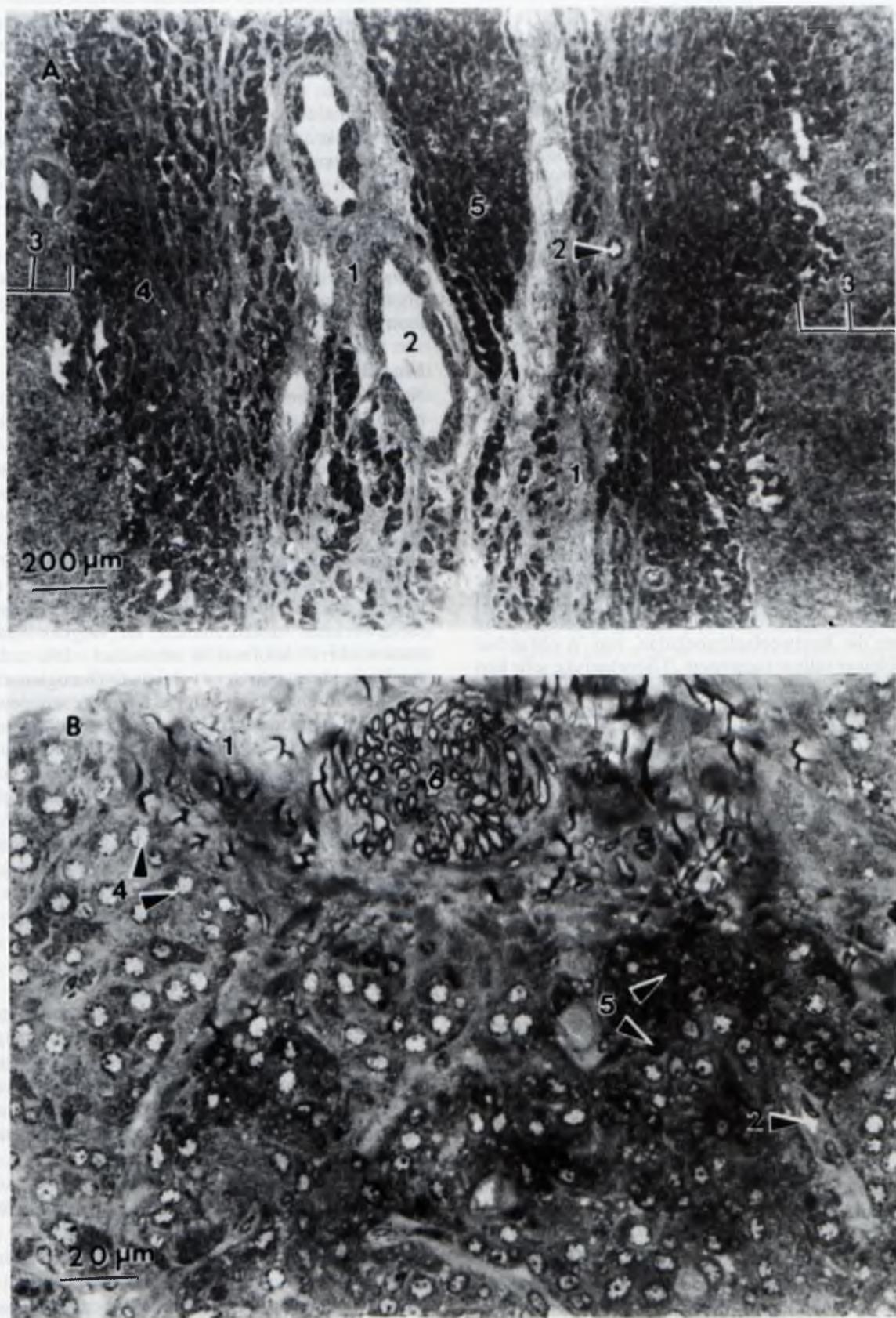
**FIGUUR 1:** Diagramme van die byniere van *Loxodonta africana*. (A) 'n dwarssnit deur die klier; (B) koudale aansig van 'n snit deur die koudale end van die klier; (C) koudale aansig van 'n snit deur die kraniale end van die klier. 1 - koudale pool van die klier; 2 - kraniale pool van die klier; 3 - dorsale rand van die klier; 4 - ventrale rand van die klier; 5 - mediale horing; 6 - korteks; 7 - medulla; 8 - kapsel; 9 - zona glomerulosa; 10 - zona fasciculata; 11 - zona reticularis; 12 - medullêre kapsel; 13 - F-sone; 14 - bloedvat.



**FIGUUR 2:** Fotomikrograwe van die byniere van *L. africana* om (A) verhoudings van die medullêre kapsel (X186); (B) selle in die zona reticularis (X464); (C) selle in die zona reticularis (X1160); (D) selle in die F-laag (X1160) aan te dui. 1 - zona reticularis; 2 - medullêre kapsel; 3 - F-sone; 4 - buitenste selle van die medulla; 5 - bindweefsel; 6 - selle van die zona reticularis; 7 - sinusoiede; 8 - kern van 'n R1-sel; 9 - kern van 'n R2-sel; 10 - kern van 'n R3-sel; 11 - kern van 'n A1-sel; kern van 'n A2-sel.



**FIGUUR 3:** Elektronmikrograwe van die byniere van *L.africana* om (A) selle in die zona reticularis (X8651); (B) A1-sel in die F-laag (X15230); (C) A2-sel in die F-laag (X12359); (D) selle in die medulla (X3766) aan te dui. 1 - kern van 'n zona reticularissel; 2 - nukleolus; 3 - chromatien; 4 - mitochondria; 5 - agranuläre endoplasmatische retikula; 6 - lisosome; 7 - vry ribosome; 8 - lipied; 9 - selmembrane; 10 - kern van 'n A1-sel; 11 - desmosome; 12 - kern van 'n A2-sel; 13 - Golgi-apparaat; 14 - kern van 'n M1-sel; 15 - kern van 'n M2-sel; 16 - granules; 17 - granuläre endoplasmatische retikula.



FIGUUR 4: Fotomikrograwe van die byniere van *L. africana* om (A) rangskikking van die medulla (X47); (B) die medulla (X 471) aan te dui. 1 - bindweefsel; 2 - bloedvate; 3 - F-laag; 4 - M1-selle; 5 - M2-selle; 6 - senuwee.

## BESPREKING

### Algemeen

Die struktuur van die zona reticularis en die medulla van die olifant verskil nie baie van dié van ander groot soogdiere soos die perd, mens en hond nie.<sup>5</sup> Verskille is die groot hoeveelhede bindweefsel en die baie lipied in die zona reticularis en die F-laag.

Ander spesies, byvoorbeeld die rot, marmot, haas, hond<sup>5</sup> en die mens,<sup>3</sup> het ook baie lipied in die selle van hulle byniere, maar dit is baie minder as by hierdie olifant. Hierdie groot hoeveelhede lipied hou moontlik verband met die aktiwiteit van die selle. Dit is bekend dat die hoeveelheid lipied baie is in selle wat aktief steroïede sekreteer, terwyl selle wat besig is om te degenereer nog meer lipied bevat.<sup>5</sup>

### Zona reticularis

Die rangskikking van die selle van die sone is soos by ander soogdiere.<sup>5</sup> Die oorgang tussen die zona fasciculata en die zona reticularis is, net soos by die marmot, moeilik onderskeibaar.<sup>13</sup> Die selle bevat, soos by die Mongoolse springhaasmuis<sup>5</sup> en die marmot,<sup>13</sup> minder lipied as die selle van die zona fasciculata.

Verskillende tipes selle, onderskeibaar op grond van die intensiteit waarmee dit kleur, kom by ander diere voor.<sup>4</sup> By die mens is daar ligte en donker selle in hierdie sone. Dit hou moontlik verband met wisselende indringing van die fikseermiddel.<sup>3</sup> Ander outeurs het in die medullêre kapsel en die zona reticularis, veral in die rigting van die medulla en rondom die bindweefseltrabekulae, van 'n olifantbul groepies kleiner selle waargeneem.<sup>14</sup> Soortgelyke selle kon egter nie by die dier tydens die huidige ondersoek en met die metodes wat gebruik is, waargeneem word nie.

Meer onlangs het ander outeurs<sup>15</sup> ook nie hierdie selle waargeneem nie.

### Medullêre kapsel

Die medullêre kapsel is ook deur ander outeurs waargeneem.<sup>14,15,16</sup> Sommige trek die aaneenlopendheid van dié kapsel in twyfel,<sup>16</sup> terwyl ander dit slegs in party diere waargeneem het.<sup>14</sup> Die medullêre kapsel is 'n konstante kenmerk van die byniere van die olifant wat vir hierdie studie ondersoek is, asook van die byniere van ander olifante. Die hoeveelheid is egter minder by jonger diere, soos wat ook gevind is by die hamster.<sup>17</sup> Dit is dus moontlik dat in die gevalle waar Kramer en medewerkers<sup>15</sup> en Krumrey en Buss<sup>16</sup> nie duidelike medullêre kapsels waargeneem het nie die diere jong was. Bogenoemde outeurs meld nie die ouderdom van die olifante waarvan die byniere ondersoek is nie.

### F-Laag

Die F-laag by die olifant kom voor waar die fetale sone of X-sone by ander diere, soos die rot, gevind word.<sup>5</sup> Ook by die olifant word 'n fetale sone beskryf, maar dit verdwyn op vier en 'n half jaar deur óf te degenereer óf deur omskep te word in zona reticularisselle.<sup>16</sup> Volgens die beskikbare beskrywing van die fetale sone van ander diere<sup>18</sup> en persoonlike waarnemings op die byniere van olifantfetusse is die F-laag nie oorgeblewe fetale selle nie. Soortgelyke selle is deur O'Donoghue en medewerkers<sup>14</sup> en Kramer et al.<sup>15</sup> waargeneem. Eergenoemde outeurs het tot die gevolgtrekking gekom dat hierdie selle uitlopers van die

zona fasciculata is wat deur die zona reticularis en die medullêre kapsel strek tot teenaan die selle van die medulla. Laasgenoemde het gerapporteer dat die selle morfologies identies is aan die selle van die zona fasciculata, maar geen verklaring vir die ligging daarvan gemaak nie.<sup>14</sup>

Die dikte van die F-laag wissel afhangende van die ligging in die klier en kan selfs verdwyn. Dit bly egter 'n konstante kenmerk van al die byniere wat tydens hierdie navorsingsprojek ondersoek is. Hoewel die selle mikroskopies en selfs ultrastruktureel baie soos die selle van die zona fasciculata lyk, kan dit op grond van die ligging daarvan as 'n aparte laag beskou word.

Dit kom voor asof die selle met die kleiner reëlmatische kerne (tipe A1) besig is om te degenereer aangesien die organelle in hierdie selle 'n groot mate van degenerasie toon (sien fig. 3B).

### Medulla

Net soos by die olifant word die parenkiemselle van die medulla van die mens omring deur bindweefsel en bloedvate.<sup>19</sup> By ander soogdiere, soos die hamster, kom ook twee tipes selle voor,<sup>20,21</sup> wat onderskeidelik adrenalien en noradrenalien sekreteer. Die onderskeid tussen die selle berus op verskille in die struktuur van die chromaffin-granules.<sup>21</sup> Die selle wat noradrenalien sekreteer, is by die hamster om die periferie van die medulla geleë.<sup>20</sup> By die olifant sekreteer die selle wat donkerder kleur en naastliggend aan die F-laag geleë is volgens O'Donoghue en medewerkers<sup>14</sup> noradrenalien, en volgens Kramer en medewerkers<sup>15</sup> hoofsaaklik adrenalien. Die ander selle, wat ligter kleur, sekreteer volgens O'Donoghue en medewerkers<sup>14</sup> adrenalien, en volgens Kramer en medewerkers<sup>15</sup> hoofsaaklik noradrenalien. 'n Derde tipe sel, die sogenaamde kleingranule-chromaffinsel of "small granule chromaffin cell" ("SGC cell"), soos gevind is by die mens,<sup>22</sup> kon egter nie met die metodes wat gebruik is by die olifante opgespoor word nie.

Die hoofeienskap van die selle van die medulla van die olifant is, soos by die mens, die groot aantal granules. Dieselfde organelle wat in dié selle van die olifant waargeneem is, kom ook by die mens voor.<sup>22</sup>

## SUMMARY

The adrenals of the African elephant are located retroperitoneally on the dorsal abdominal wall medially and ventrally of the kidneys. The glands are on average 20 cm in length and 4 cm in width, while the average mass of each adrenal is 150 grams. The glands have an elongated shape with a protuberance at the thickened caudal end. The adrenals are flattened dorso-ventrally.

The adrenal is surrounded by a connective tissue capsule that consists mainly of collagen fibres and fibroblasts. The outer two fifths of the capsule consist of loose fibrillar connective tissue, while the inner three fifths are more dense and show connective tissue cells, smooth muscle cells and reticular fibres. From the capsule connective tissue trabeculae extend perpendicular to the surface into the substance of the gland. Cells with the appearance of cells of the zona glomerulosa are found next to some of the trabeculae. The collagen fibres in these trabeculae are

arranged perpendicular to the surface of the adrenal. Blood vessels are found in the capsule.

The zona glomerulosa of the elephant is a narrow and well defined zone with irregular outlines. Connective tissue trabeculae from the outer capsule extend throughout this zone. Three types of parenchymal cells can be distinguished in the zona glomerulosa. These cells are arranged in small glomeruli with connective tissue between the groups of cells. The shape of the parenchymal cells is round or oval. The nuclei are round with prominent chromatin and nucleoli. Abundant mitochondria and smooth endoplasmic reticula, as well as free ribosomes, lysosomes and varying number of lipid droplets, are found in the cytoplasm of the parenchymal cells. A few desmosomes were also observed.

The zona fasciculata is located between the zona glomerulosa and the zona reticularis and is the widest zone in the adrenals of the African elephant. The parenchymal cells of this zone are found in radially arranged cords. Connective tissue is found between the cords. The parenchymal cells are round or oval shaped. The nuclei, showing prominent nucleoli and chromatin, are located at the periphery of the cells. Three types of cells can be distinguished in the zona fasciculata of the elephant. The cytoplasm of both cell types contains abundant lipid droplets, mitochondria with differing shapes, and smooth endoplasmic reticula. A number of small lysosomes and free ribosomes are also found.

In the inner part of the zona fasciculata irregular shaped membrane bound structures are found. The contents of all these structures have the appearance of smooth endoplasmic reticula, while in some a structure resembling a nucleus was found.

The zona reticularis is a narrow zone located between the zona fasciculata and the medullary capsule. The parenchymal cells are arranged in anastomosing cords with sinusoids and connective tissue between the cords. Three types of parenchymal cells can be distinguished in the zona reticularis. The nuclei of these cells are located at the periphery of the cells and show prominent nucleoli and dense chromatin. In the cytoplasm of all parenchymal cells round or oval shaped mitochondria, lysosomes, free ribosomes and abundant smooth endoplasmic reticula are found.

The medullary capsule, located between the zona reticularis and the F-zone, consists mainly of collagen fibres arranged parallel to the surface of the gland.

Between the medullary capsule and the medulla a zone with irregular outlines that consists of cells with the appearance of cells of the zona fasciculata is found. The parenchymal cells are round or oval shaped and are arranged in groups of between two and six. Connective tissue is found between the cell groups. Two types of cells are found in the F-zone. The nuclei of the first type are irregularly shaped, while those of the second type are round. Chromatin is found in both cell types. The cytoplasm of the parenchymal cells of this zone contains abundant lipid droplets, mitochondria and smooth endoplasmic reticula, as well as a few free ribosomes and lysosomes.

The outline of the medulla are irregular. Connective tissue and many blood vessels, as well as nerve fibres, are found in this part of the adrenal of the elephant. Two types

of cells are distinguished. The cytoplasm of the first type stains more intensely with a number of different stains than that of the second type and is arranged in an irregular layer around the cells of the second type. The shape of the parenchymal cells is round or oval, while in the cytoplasm lysosomes, mitochondria, rough endoplasmic reticula, smooth endoplasmic reticula, abundant granules and a few vesicles are found. Desmosomes are also observed. The nuclei are located at the periphery of the parenchymal cells and show no nucleoli.

## BEDANKINGS

1. Die Sentrale Navorsingsfonds van die UOVS vir be fondsing.
2. Die Nasionale Parkeraad vir toestemming om weefsel te versamel en vir hulp met die verkryging van gesukte weefsel.

## LITERATUURVERWYSINGS

1. Jones, I.C. (1957). *The adrenal cortex* (Cambridge University Press).
2. Gaunt, R. (1975). In *Handbook of Physiology*. Sec. 7: Endocrinology. Vol. VI Adrenal Gland. Greep, R.O. & Astwood, E.B. eds. (American Physiological Society, Washington, D.C.) pp 1-13.
3. Neville, A.M. & O'Hare, M.J. (1982). *The Human Adrenal Cortex* (Springer-Verlag, Berlin).
4. Deane, H.W. & Greep, R.O. (1946). A morphological and histochemical study of the rat's adrenal cortex after hypophysectomy, with comments on the liver, *Am. J. Anat.*, 79, 681 - 700.
5. Idelman, S. (1978). In *General, Comparative and Clinical Endocrinology of the Adrenal Cortex*, Vol. 2, Jones, I.C. & Henderson, I.W. eds. (Academic Press London, New York & San Francisco) pp.8 - 161.
6. Hopwood, D. (1982). In *Theory and Practice of Histological Techniques*, Bancroft, J.D. & Stevens, A. eds. (Churchill Livingstone Edinburgh, London, Melbourne & New York).
7. Sabatini, D.D., Bensch, K. & Barnett, R.L. (1963). Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation, *J. Cell Biol.*, 17, 19-23.
8. Millonig, G. (1961). Advantages of a phosphate buffer for osmium tetroxide solution in fixation, *J. appl. Phys.*, 32, 1637-1638.
9. Luft, J.H. (1961). Improvements in epoxy resin embedding methods, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9, 409 - 414.
10. Pease, D.C. (1964). In *Histological Techniques for Electron Microscopy* (Academic Press, New York).
11. Gibbons, I.R. & Grimstone, A.V. (1960). On flagellar structure in certain flagellates, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 7, 697 - 716.
12. Venable, J.H. & Coggeshall, R. (1965). A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy, *J. Cell Biol.*, 25, 407-408.
13. Black, V.H., Mierlak, J., Katz, T., Miao, P., Huima, T. & McNamara, N. (1982). Isolated guinea pig adrenocortical cells in vitro: morphology and steroidogenesis in control and ACTH-treated cultures, *Am. J. Anat.*, 165, 225-248.
14. O'Donoghue, P.N., Sikes, S.K. & Turvey, A. (1967). Notes on the adrenal of the African elephant (*Loxodonta africana*), *J. Zool.*, 152, 281 - 286.
15. Kramer, B., Teixeira, M. & Hattingh, J. (1991). The histology of the adrenal gland of the African elephant, *Loxodonta africana*, *S. Afr. J. Zool.*, 26(4), 193-198.
16. Krumrey, W.A. & Buss, I.O. (1969). Observations on the adrenal gland of the African elephant, *J. Mammalogy*, 50(1) 90 - 101.
17. Meyers, M.W. & Charipper, H. A. (1956). A histological and cytological study of the adrenal gland of the golden hamster (*Cricetus auratus*) in relation to age, *Anat Rec.*, 124, 1 - 26.

18. Long, A.J. (1975). In *Handbook of Physiology*. Sec.7: *Endocrinology*. Vol. 6. Adrenal gland, Greep, R.O. & Astwood, E.B. eds. (American Physiological Society, Washington D.C.) 13-24.
19. Black, V.A. (1988). In *Cell and Tissue Biology: A Textbook of Histology*, Weiss, Leon, ed. 6th ed., pp. 1036 - 1061 (Urban & Schwarzenberg).
20. Grynszpan-Winograd, O. (1975). In *Handbook of Physiology*. Sec. 7: Endocrinology. Vol. VI Adrenal Gland, Greep, R.O. & Astwood, E.B. eds. (American Physiological Society, Washington D.C.) pp. 295- 308.
21. Coupland, R.E. (1965). Electron microscopic observations on the structure of the rat adrenal medulla. I. The ultrastructure and organization of chromaffin cells in the normal adrenal medulla, *J. Anat.*, 99 (2), 231 - 254.
22. Carmichael, S. (1983). *The adrenal medulla*, Vol. 3 (Eden Press, Westmount, Quebec, Canada).