

Aus der Nervenklinik (Prof. Dr. H. RUFFIN) und der Neurochirurgischen Klinik
(Prof. Dr. T. RIECHERT) der Universität Freiburg i. Br.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der menschlichen Hirnrinde beim Hydrocephalus

Von

G. STRUCK und R. HEMMER

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. April 1964)

Der kindliche Hydrocephalus ist „in seiner Genese und in seinem Verlauf eine noch weitgehend unbekannte Krankheit“ (RIECHERT u. UMBACH 1960). Die auf lichtoptischen Untersuchungen beruhenden Befunde sind nur spärlich (HALLERVORDEN 1953). Sie sind gekennzeichnet durch eine relative Dichte der zelligen Elemente, vor allem der Glia, die derartig sein kann, daß sie als Proliferation imponiert. FRIEDE (1962) hat nachgewiesen, daß es sich hierbei in Wirklichkeit nicht um eine Zellvermehrung handelt, sondern um den Ausdruck einer Gewebekompression. Über die Feinstruktur des Cortex beim Hydrocephalus des Menschen liegen bisher — soweit wir übersehen — noch keine systematischen Untersuchungen vor. — Wir hatten Gelegenheit, bioptisch gewonnenes Cortexgewebe im Rahmen von Hydrocephalus-Drainage-Operationen bei Kindern elektronenmikroskopisch zu untersuchen.

Untersuchungsgut und Methode

Das untersuchte Rindengewebe stammt von 5 Kindern im Alter von 1 bis 12 Monaten mit Hydrocephalus oclusus und hypersekretorius und von 2 normalen Kindern (4 bzw. 12 Monate alt).

Klinische Daten

1. Iris N. (2 Monate): wegen einer Lageanomalie rechtzeitig operativ entbunden; bei der Geburt fiel vergrößerter Kopfumfang auf. 8 Wochen nach Geburt Ventrikulografie; dabei ergab sich ein extremer Hydrocephalus mit einer Cortextdicke frontal von 1,5—2 cm. Drainage-Operation. (Ventrikel-Druck: 340 mm H₂O.)

2. Marion S. (4½ Monate): 2½ Monate vor errechnetem Geburtstermin war Entbindung durch Sectio wegen vergrößerten Kopfumfanges (41 cm) notwendig. 3 Wochen danach Klinik-Aufnahme. Bei Ventrikulografie hochgradig erweitertes Ventrikelsystem festgestellt mit nur membrandünmem Hirnmantel. (V.D.: 200 mm H₂O.)

3. Gabriele F. (1½ Monate): bei Geburt wurde schlaffe lumbale Myelocoele festgestellt, die operativ abgetragen wurde. Danach trat rasch ein abnormes Schädelwachstum ein. Kopfumfang 1½ Monate nach Geburt 43 cm. Bei Ventrikulografie

zeigte sich ein Hydrocephalus mit Cortexdicke von etwa 2,5 cm. Drainage-Operation. (V.D.: 340 mm H₂O.)

4. Volker F. (12 Monate): bei Geburt wurde schlaffe lumbale Myelocoele festgestellt, die operativ abgetragen wurde. Danach starke Zunahme des Kopfumfangs, deshalb 4 Wochen nach der Geburt Anlegen einer Ventrikel-Herzohrdrainage. Im Laufe eines Jahres allmählich zunehmende Druckerscheinungen. Wegen Jugularis-thrombose nach 1 Jahr erneut Ventrikel-Herzohrdrainage auf der Gegenseite. Bei dieser 2. Operation Gewebsentnahme zur elektronenmikroskopischen Untersuchung. (V.D.: 350 mm H₂O.)

5. Rainer P. (1 Monat): bei Geburt Kopfumfang 45 cm. Bei Ventrikulografie 4 Wochen später zeigt sich eine Hirnmanteldicke von 1,5 cm. Anlegen einer Ventrikel-Herzohrdrainage. (V.D.: 350 mm H₂O.)

Kontrolluntersuchungen bei Nicht-Hydrocephalen

6. Ursuso L. (12 Monate): Operation wegen Pachymeningosis hämorrhagica int. (Kein Hydrocephalus). Dabei Gewebsentnahme aus dem parietalen Cortex.

7. Volker W. (4 Monate): Operation wegen prämaturer Synostose der Pfeilnaht ohne Zeichen eines erhöhten Hirndrucks. (Kein Hydrocephalus.) Dabei Gewebsentnahme aus dem parietalen Cortex.

Methodik¹ der elektronenmikroskopischen Untersuchung

Bei Gelegenheit der operativen Drainage des Hydrocephalus wurde je ein 1,5–2 mm³ großes Rindenstückchen aus parieto-occipitalen Hirnregionen entnommen und sofort nach schonendster Excision in gekühlte, isotonische, gepufferte 1%ige Osmiumtetroxydlösung gebracht. Anschließend Fixation für 1–2 Std bei +4°C. Nach Waschen in Pufferlösung und Entwässerung in Aceton und Alkohol Einbettung in Vestopal-W. Polymerisierung bei 60°C. Herstellung der Ultradünnschnitte am Ultramikrotom nach PORTER/BLUM. Nachkontrastierung mit Bleihydroxyd. Untersuchung der Schnitte am Gerät EM 9 der Firma Zeiss/Oberkochen bei 60 kV.

Dickere Schnitte des in Vestopal-W eingebetteten Materials färbten wir nach GIEMSA und untersuchten sie lichtoptisch.

Befunde

Die *lichtoptische Untersuchung* läßt in allen Fällen einen normalen corticalen, Schichtenaufbau vermissen. Die zelligen Elemente, sowohl Neuronen als auch Glia, liegen relativ dicht beieinander. Irgendwelche Veränderungen sind an den Zellen nicht zu erkennen. Die Gefäße erscheinen unauffällig. In den Abschnitten, die aus tieferen Rindenschichten stammen, sind regelrecht aufgebaute Markscheiden sichtbar.

Elektronenmikroskopische Bilder aus dem Cortex aller Beobachtungsfälle mit Hydrocephalus zeigen übereinstimmend eine eindrucksvolle Veränderung des Neuropils: ein Teil der cellulären Elemente, nämlich die Fortsätze der Gliazellen, sind im Quer- und Längsschnitt verschmälert. Die Dendriten und Neuriten zeigen dagegen keine Änderung ihrer Struktur. Die Zellplasmamembranen liegen nicht, wie das

¹ Fräulein MARGOT KÜHN danken wir auch an dieser Stelle für ihre bewährte technische Mitarbeit.

im normalen Cortex und auch bei unseren beiden Vergleichsfällen zu sehen ist, dicht beieinander, sondern lassen mehr oder weniger weite intercelluläre Räume zwischen sich, die optisch leer erscheinen (vgl. Abb.1).

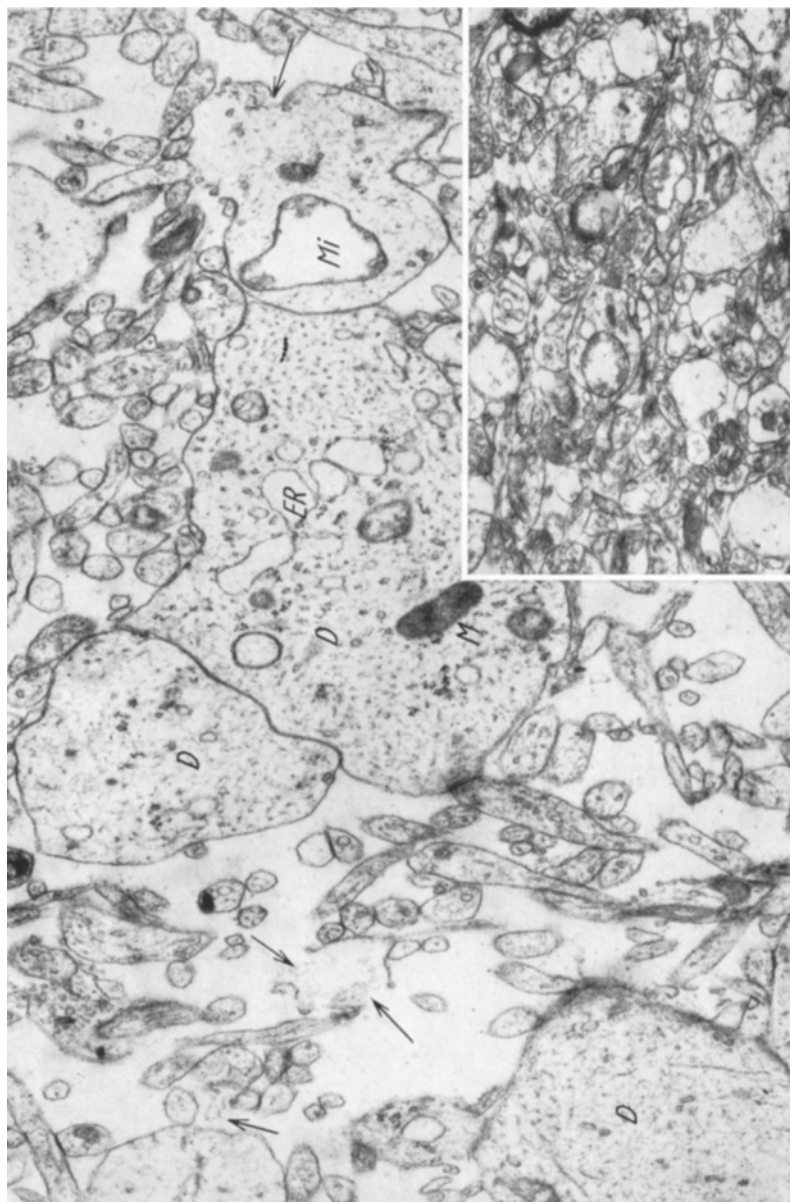


Abb. 1. Cortex aus Hydrocephalus-Hirn (Beob. 3, Gabriele F.). Die zwischen den Zellfortsätzen liegenden „Spalträume“ sind stark ausgedehnt. Einzelne Dendriten (D) erscheinen normal. Mi verändertes Mitochondrium; M normales Mitochondrium; ER Endoplasmareticulum. Eingelassene Plasmamembranen. Bildausschnitt rechts unten: normales Neuropil aus unverändertem Cortex (Beob. 6, Ursula L.). M: 25.000 : 1 (auf 19/20 verkleinert)

Die Weite der Abstände von einer Zellplasmamembran zur benachbarten schwankt innerhalb eines untersuchten Gewebeblocks zwischen 500 Å und 1,5 μ . Die durchschnittliche intercelluläre Ausweitung liegt bei 0,6 μ .

Das untersuchte Gewebe der einzelnen Beobachtungsfälle zeigt keine absolute Konstanz der „mittleren Weite“ des intercellulären Plasmamembranabstandes. Bei einigen Fällen sind die Abstände besonders groß (0,5–1,5 μ), bei anderen wieder geringer (unter 0,5 μ): genaue statistische Aussagen erlaubt unser Material jedoch nicht.

Eine Korrelation zwischen dem Grad der festgestellten Ausweitung des Neuropils und der bei der Ventriculografie bestimmten Dicke des Hirnmantels läßt sich nicht herleiten. Als Beispiel seien zwei Bilder (Abb. 2 und 3) gegenübergestellt, die von einem stark ausgeprägten Hydrocephalus (Abb. 2; Dicke des gesamten Hirnmantels nur wenige Millimeter) und von einem weniger intensiven Hydrocephalus (Abb. 3; Hirnmantel: 2,0 cm) stammt. — In einem Fall (Abb. 2) zeigt sich eine nur verhältnismäßig geringfügige Ausweitung der intermembranösen Räume, während diese im zweiten Fall (Abb. 3) als wesentlich weiter imponieren.

Relativ oft trifft man gerissene und scheinbar „geplatzte“ Plasmamembranen (Abb. 1, 3). Wichtig erscheint der Hinweis, daß sie zwar reißen, dabei aber nicht aufspalten!

Gleiche Plasmamembraneinrisse sind — wenn auch seltener — im normalen Cortexgewebe anzutreffen.

Die Mitochondrien in den Zellfortsatzstrukturen sind teilweise aufgetrieben und im Inneren strukturverarmt oder ganz strukturlos (Abb. 1, 4). Oft erkennt man noch Reste von mitochondrialen Christae.

Während die glösen Zellfortsätze, wie eben beschrieben, zum Teil mehr oder minder stark geschrumpft erscheinen, sind die Dendriten und auch die Neuriten der Nervenzellen oft nicht verändert, wie die Abb. 1 und 4 erkennen lassen.

Die lichtoptisch nachgewiesene relative Dichte der Zelleiber von Glia- und Nervelementen zeigt sich elektronenmikroskopisch in häufigen Kern- und Pericarionanschnitten. Das Endoplasmareticulum der Nervenzellen ist häufig stark ausgeweitet (Abb. 5). Das Kernplasma weist oft nicht die normale gleichmäßige Osmiophilie auf, sondern zeigt multiple Verdichtungszone, wie der Kern auf Abb. 5 gut erkennen läßt.

Abb. 2. Ausschnitt aus Neuropil (Beob. 2, Susanne S.). Hier sind die intermembranösen Spalten nicht so stark ausgeweitet wie beim vorigen Fall. Links (umrandet) Cytoplasma einer Nervenzelle mit ausgeweitetem Endoplasmareticulum (ER); Af Astrocytenfortsätze; D Dendriten. M: 18000:1 (auf 5/6 verkleinert)

Abb. 3. Neuropil bei Beob. 1 (Iris N.). Beachte die Weite der intermembranösen Spalten! Einzelne Plasmamembranen sind eingerissen (→). D Dendriten; Sb synaptische Bläschen; M_v veränderte Mitochondrien. M: 26000:1 (auf 7/8 verkleinert)

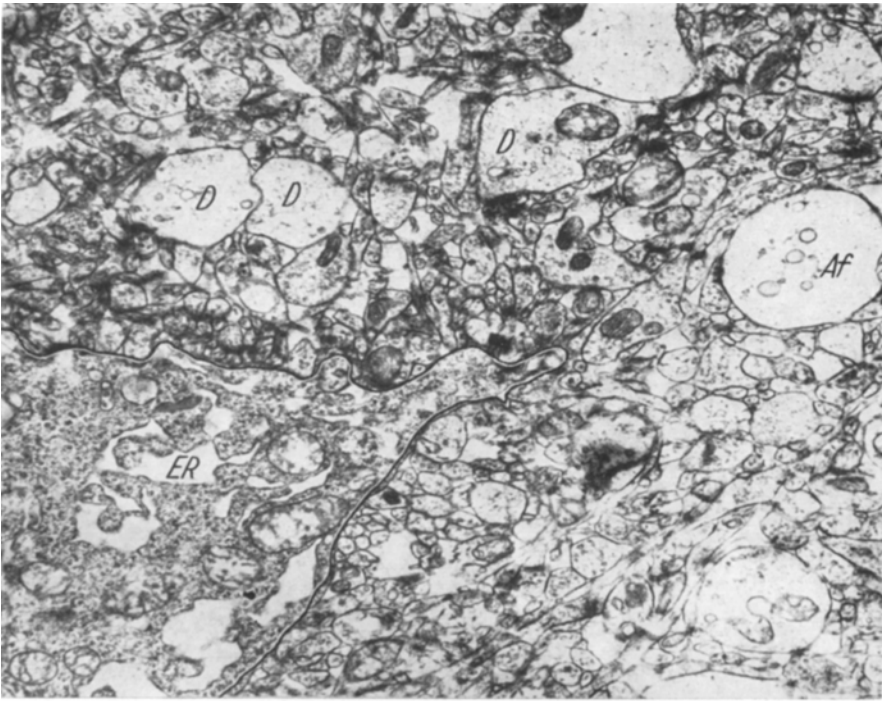


Abb. 2

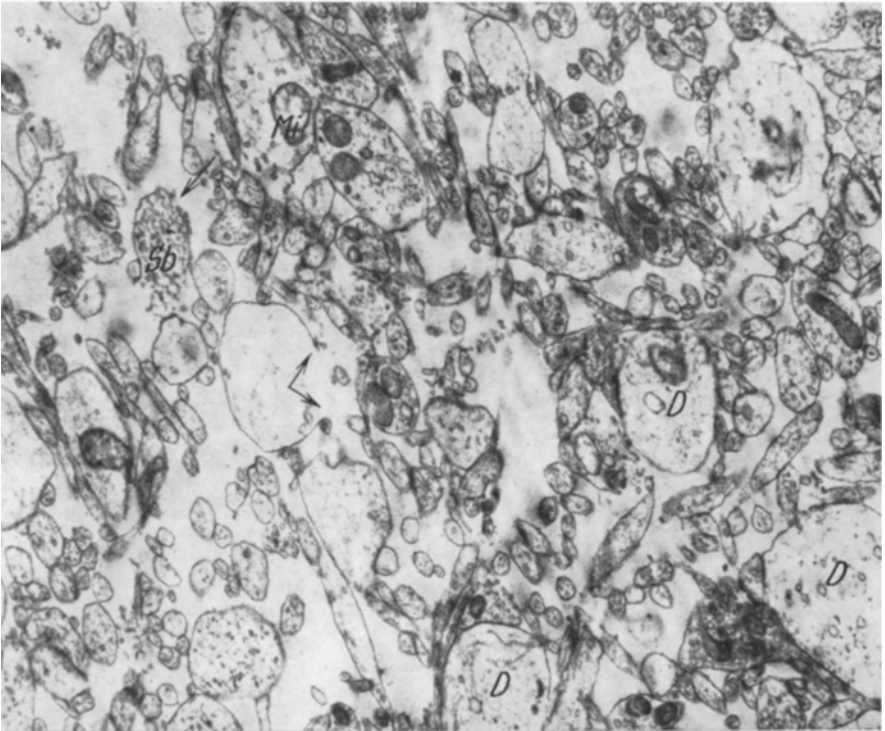


Abb. 3

Legenden siehe S. 20

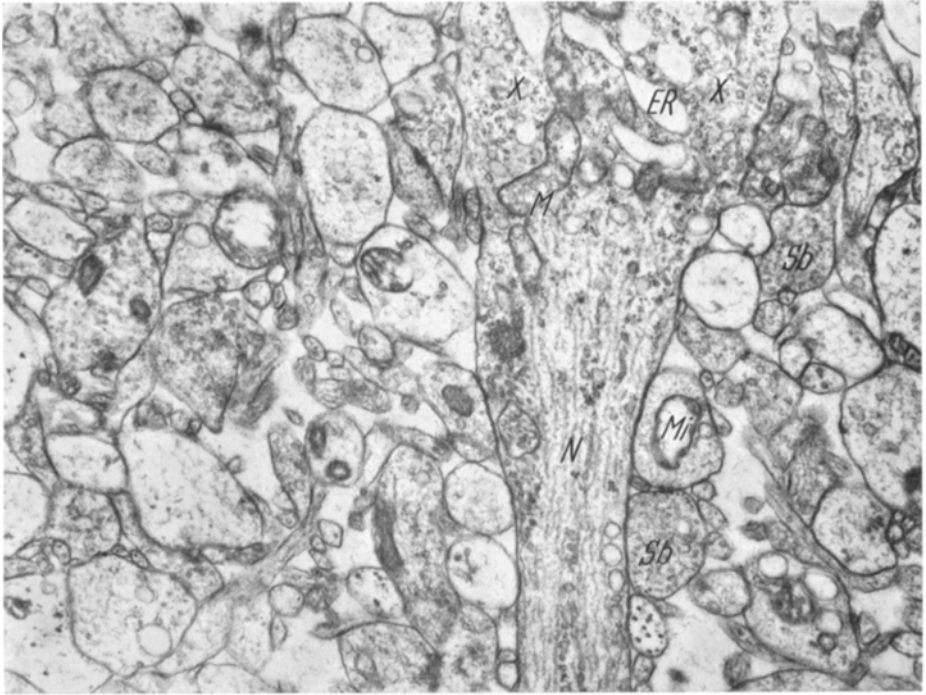


Abb. 4

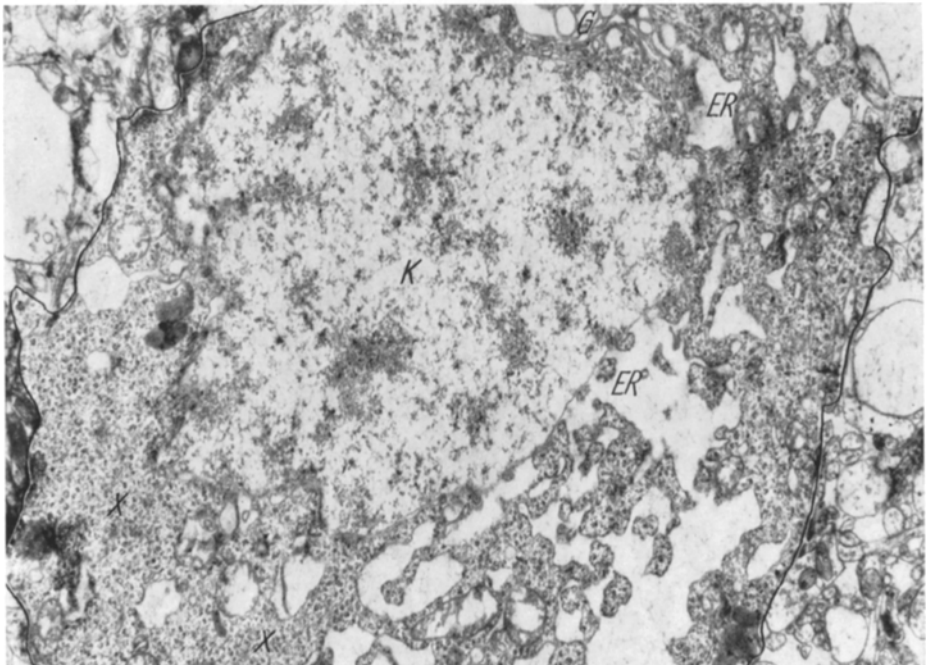


Abb. 5 (Legenden siehe S. 23)

Vielfach ist die Kernmembran nicht mehr scharf abgrenzbar. Sind am Schnitt Teile des Nucleolus getroffen, so ist die Form meist nicht rund, wie die der Nervenzellen aus normalem Cortex, sondern zeigt Ausbuchtungen und Vorwölbungen (Abb.6).

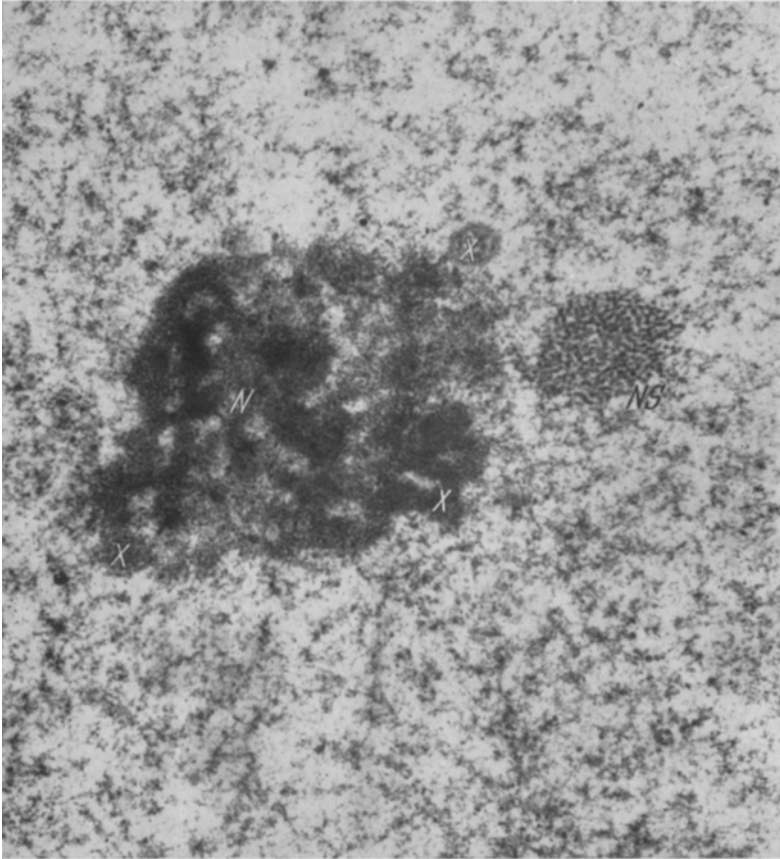


Abb.6. Nucleolus (N) mit Nucleolarsatellit (NS) einer corticalen Nervenzelle aus Hydrocephalus-Rinde. Die „Ausbuchtungen“ (x) stellen wahrscheinlich ausgeschleustes Nucleolarmaterial dar.
M: 25 000 : 1

Vacuolen, die wir in Nervenzellen nur selten antreffen, kommen in Gliazellen öfter vor. Sie enthalten zum Teil fädige, schwach osmiophile Partikel und zeigen keine Beziehung zum Endoplasmareticulum.

Abb.4. Neuropil-Ausschnitt mit Neurit (N), bei Beob. 3 (Gabriele F.). Intermembranöse Spalten nur mäßig ausgeweitet. Oben Nervenzellcytoplasma mit Endoplasmareticulum (ER), RNS-Granula (x) und Mitochondrien (M). Mi verändertes Mitochondrium eines Dendriten; Sb synaptische Bläschen.
M: 27 000 : 1 (auf 5/6 verkleinert)

Abb.5. Nervenzellcytoplasma (umrandet) mit Kern (K) und ausgeweitetem Endoplasmareticulum (ER). Bei x RNS-Granula. G Golgi-Zone. M: 18 000 : 1 (auf 4/5 verkleinert)

Die Markscheiden in tieferen Schichten des Cortex lassen stellenweise eine herdförmige Abblassung, Verdünnung und Auflösung ihrer Lamellenstruktur erkennen. Die Capillarwandungen zeigen meist einen regelrechten Aufbau: die Basalmembranen einzelner Capillaren sind gegenüber der Norm deutlich erweitert und die Endothelzellen enthalten runde Vacuolen.

Besprechung der Befunde

Das hervorstechendste Merkmal der elektronenmikroskopischen Befunde unserer Hydrocephalus-Fälle besteht in einer Veränderung des Neuropils mit Verschmälerung der Gliafortsatzstrukturen bei Intaktheit der Dendriten und Neuriten.

Im Neuropil kommen dadurch weite intercelluläre Spalträume zur Darstellung, die nach den bisherigen Erfahrungen ganz ungewöhnlich sind.

Seit den Untersuchungen von HORSTMANN (1958), HORSTMANN u. MEVES (1959), HAGER (1959) u. a. wissen wir, daß der Cortex bei Mensch und Säugetier keinen eigentlichen intercellulären Raum aufweist, sondern daß die Zellplasmamembranen eng aneinander liegen und einen Abstand von 100–200 Å zwischen sich lassen. Selbst bei diffusen pathologischen Prozessen wie z. B. beim Ödem (vgl. STRUCK u. KÜHN 1963; STRUCK u. UMBACH 1964a und b) ist dieser schmale intermembranöse Spalt stets konstant und niemals ausgeweitet.

Um so mehr muß überraschen, daß beim Hydrocephalus eine derartige Ausweitung erfolgt, wobei es doch grundsätzlich, nach mechanischen Vorstellungen, zu einer Gewebekompression kommt. Bei der normalerweise dichten Anordnung der cellulären Strukturen des Neuropils hätte man zu erwarten, daß Adhäsionskräfte wirksam sind, die ein Auseinanderrücken der ursprünglich aneinandergelagerten Zellplasmamembranen verhindern. Eine „Sprengung“ dieser Kräfte muß als Voraussetzung für die Entstehung der ausgeweiteten intermembranösen Spalten angenommen werden.

Zunächst erhebt sich natürlich die Frage nach einer artefiziellen Entstehung dieser Veränderungen. Hierzu läßt sich jedoch sofort einwenden, daß genügend Vergleichsmaterial aus normalem Cortex und auch aus Ödemgewebe vorliegt, das mit gleicher Methode gewonnen und mit identischen Verfahren aufgearbeitet worden ist, ohne daß sich auch nur in einem Block ähnliche Veränderungen gezeigt hätten, wie bei dem Gewebe, das aus Hydrocephalus-Cortex stammt. Andererseits ist zu erwägen, ob es sich beim Hydrocephalusgewebe um Partien handeln kann, die — etwa mechanisch bedingt — einer Drucknekrose anheimgefallen sind. Aber weder bei der operativen Entnahme noch lichtoptisch waren Hinweise auf derartig umschriebene nekrotische Schäden zu gewinnen.

Bei seinen Untersuchungen am Material aus nekrotischen Hirnbezirken hat HAGER (1964) ultrastrukturelle Veränderungen angetroffen, denen unsere Befunde ähnlich sind.

Nach dem feinstrukturellen Bild handelt es sich beim Hydrocephalus um eine allgemeine Gewebedestruktion des Neuropils, die wir als „Gefügestörung“ bezeichnen möchten, weil vorwiegend das System der normalerweise lückenlosen intercellularen „Fugen“ betroffen zu sein scheint.

Unterschiede in bezug auf die verschiedenartige Genese des Hydrocephalus (also z. B. ob Hydrocephalus oclusus oder communicans) haben wir an Hand der elektronenmikroskopischen Bilder nicht ermitteln können. Auch sind keine feinstrukturellen Unterschiede hinsichtlich der Dauer der hydrocephalen Erscheinungen und dem intraventriculären Druck festzustellen.

Auf fast allen Bildern, auf denen Neuropil dargestellt ist, sieht man Einrisse von Plasmamembranen. Gleichartige Membranläsionen sind früher (vgl. TORACK u. Mitarb. 1959; NIESSING u. VOGELL 1960 u. a.) als spezifische Ödemschäden aufgefaßt worden. Wir haben bereits mehrfach darauf hingewiesen (vgl. STRUCK u. KÜHN 1963; STRUCK u. UMBACH 1964a), daß diese Phänomene als nicht intravital entstandene Veränderungen gedeutet werden können, sondern als präparatorisch bedingte Artefakte aufzufassen sind. Die Häufigkeit ihres Vorkommens im Cortexgewebe hängt zudem vom Einbettungsmedium ab: im mit Methacrylat bearbeiteten Material sind Plasmamembraneinrisse häufiger, als im Gewebe, das in Vestopal eingebettet wurde.

In einer früheren Mitteilung (vgl. HEMMER u. Mitarb. 1964) hatten wir in dem uns damals vorliegenden Hydrocephalusmaterial am Cytoplasma der Nervenzellen keine sicheren Veränderungen ermitteln können. Bei der Bearbeitung von zusätzlichem Material aus Hydrocephalusrinde zeigte sich jedoch, daß das Endoplasmareticulum zahlreicher Nervenzellen mehr oder weniger stark ausgeweitet ist. Eine Vermehrung der Membranen des Ergastoplasmas, wie es NIKLOWITZ (1962) in hypoxisch geschädigten Purkinje-Zellen fand, haben wir nicht gesehen.

Dagegen kommen in unserem Material gelegentlich veränderte Nervenzellkerne zu Gesicht, denen die gleichmäßige Osmiophilie fehlt, wie sie normalerweise die Kerne der Neurone aufweisen. Die Kernmembranen stellen sich vielfach nicht mehr dar, wobei jedoch zu berücksichtigen ist, daß sie von ausgeschleustem Kernmaterial überlagert — oder aber am Schnitt schräg getroffen sein können. Jedoch verfügen wir über eine genügende Anzahl Bilder, die einwandfrei eine Kernmembrandestruktion zeigen. Vielfach sind vergrößerte und homogen erscheinende Nucleoli mit Ausbuchtungen und Vorwölbungen zu sehen, die an Ausschleusungsvorgänge denken lassen. Derartige Veränderungen sind bei retrograden

Nervenzellschäden (ANDERS, CERVOS-NAVARRO 1962 u. a.) gesehen worden, so daß auch für unsere Befunde eine Art retrograde Läsion zu diskutieren ist. Die zahlreichen Mitochondrienalterationen werten wir ebenfalls als Zeichen einer cellulären Schädigung; ebenso die Vacuolisierung vieler Gliaelemente.

Die Verdickung der Basalmembran zahlreicher Capillaren läßt eine Erschwerung des Stoffaustausches zwischen Blutbahn und Gewebe vermuten.

Die angetroffenen Markscheiden-Veränderungen sind als unspezifische Befunde aufzufassen. Gleichartige Alterationen kommen auch bei andersartigen diffusen Prozessen, z. B. beim Hirnödem vor (vgl. STRUCK u. UMBACH 1964a und b). Sie lassen nicht die Deutung zu, sie ausschließlich als Folgen einer Gewebekompression anzusehen.

Zusammenfassung

Die Ultrastruktur des Cortex beim Hydrocephalus occlusus und communicans des Menschen ist durch folgende Veränderungen gekennzeichnet:

1. Das Neuropil zeigt eine starke Verbreiterung des „extracellulären“ Spaltraums zwischen allen Nervenzell- und Gliafortsätzen, die sich als „Gefügestörung“ charakterisieren läßt.

2. Beziehungen zwischen dem Grad dieser „Gefügestörung“ und Ausmaß der hydrocephalen (makroskopisch festgestellten) Rindenkompression bzw. der intraventrikulären Druckerhöhung sind nicht herzuleiten.

3. Einzelne neuronale Elemente weisen alterierte Zellorganellen (Mitochondrien und Endoplasmareticulum) auf, wobei das Ausmaß dieser Veränderungen im Vergleich zu denen des Neuropils quantitativ zurücktritt. Es resultiert somit insgesamt eine relative Intaktheit der Neurone gegenüber der Gefügestörung des Neuropils.

Literatur

- ANDRES, K. H.: Untersuchungen über den Feinbau von Spinalganglien. Z. Zellforsch. **55**, 1—48 (1961).
- CERVOS-NAVARRO, J.: Elektronenmikroskopische Befunde an normalen und pathol. Nervenzellkernen. Arch. Psychiat. Nervenkr. **203**, 575—598 (1962).
- Elektronenmikroskopische Befunde an Spinalganglienzellen der Ratte nach Ischiadikotomie. In: Proc. IV. Int. Kongr. Neuropathol. (München) Vol. II, p. 99—104. Stuttgart: G. Thieme 1962.
- FRIEDE, R. L.: A quantitative study of myelination in hydrocephalus. J. Neuropath. (Baltimore) **21**, 645—648 (1962).
- HAGER, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur der sog. Grundsubstanz in der Groß- und Kleinhirnrinde des Säugetiers. Arch. Psychiat. Nervenkr. **198**, 574—600 (1959).
- Die feinere Cytologie und Cytopathologie des Nervensystems. Stuttgart: G. Fischer 1964.

- HALLERVORDEN, J.: Kindlicher Hydrocephalus. In: Hdb. Inn. Med. Bd. V., 3, S. 957—965. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1953.
- HEMMER, R., G. BOUCHARD, F. MUNDINGER, G. DIECKMANN, J. GANGLBERGER, M. GATTNERPOENITZ, W. HORSTMANN, B. ORGASS, G. STRUCK, W. SCHOLZ u. E. TILING: Erfahrungen mit der operativen Hydrocephalusbehandlung. Stuttgart: Enke 1964.
- HORSTMANN, E.: Zur Frage des extrazellulären Raumes im ZNS. Verh. anat. Ges. (Jena) **55**, 100—106 (1958).
- , u. H. MEVES: Die Feinstruktur des molekularen Rindengraus und ihre physiologische Bedeutung. Z. Zellforsch. **49**, 569—605 (1959).
- NIESSING, K., u. W. VOGELL: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Strukturveränderungen in der Hirnrinde beim Oedem und ihre Bedeutung für das Problem der Grundsubstanz. Z. Zellforsch. **52**, 216—237 (1960).
- NIKLOWITZ, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Struktur der normalen und kollapsgeschädigten Purkinje-Zelle. Beitr. path. Anat. **127**, 424—449 (1962).
- RIECHERT, T., u. W. UMBACH: Die operative Behandlung des Hydrocephalus. In: Hdb. Neurochir. IV., 1, S. 559—672. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1960.
- STRUCK, G., u. M. KÜHN: Vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der normalen und oedematös veränderten Hirnrinde des Menschen. Arch. Psychiat. Nervenkr. **204**, 209—221 (1963).
- , u. W. UMBACH: Vergleichende elektronenoptische Untersuchungen an der menschlichen Hirnrinde vor und nach Oedemtherapie. Virchows Arch. path. Anat. **337**, 317—327 (1964).
- — Das elektronenoptische Bild in Rinde und Mark beim gleichen Patienten vor und nach Dehydrierung. Neurochirurgia (Stuttg.) **7**, 64—77 (1964).
- TORACK, R. M., R. D. TERRY, and H. M. ZIMMERMANN: The fine structure of cerebral fluid accumulation: Swelling secondary to cold injury. Amer. J. Path. **35**, 1135—1147 (1959).

Dr. G. STRUCK, 5 Köln, Karolingerring 4—6

Doz. Dr. R. HEMMER, Neurochir. Univ-Klinik, 78 Freiburg i. Br.