

Morphologische Befunde am Zentralnervensystem der Ratte nach Vergiftung mit Antimetaboliten des Nicotinamids (6-Aminonicotinsäureamid und 3-Acetylpyridin) und einem Chinolinderivat (5-Nitro-8-hydroxychinolin)*

H. SCHNEIDER

Pathologisches Institut der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. W. MASSHOFF)

H. COPER

Pharmakologisches Institut der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H. HERKEN)

Eingegangen am 21. Februar 1968

Morphological Findings in the Central Nervous System of the Rat after Poisoning with Antimetabolites of Nicotinamide (6-Aminonicotinamide and 3 Acetylpyridine) and One Chinoline Derivative (5 Nitro-8-Hydroxychinoline)

Summary. 3-Acetylpyridine caused irreversible motor disorders (waltzing and hyperkinesia). It was found that 6 months following a single dose of 75 mg/kg 3-AP there was a variable loss of neurones in the oliva inferior and in the nucleus dentatus of the cerebellum.

Poisoning with 6-Aminonicotinamide (in varying doses) caused permanent and severe damage in the reticular grey matter of the spinal cord (lamina VI—VIII) and in the reticular formation of the lower brain stem. The destruction of the interneurons and the partial deafferentation of the α -motoneurons resulted in rigidity and spastic pareses of the limbs. Although acute 6-AN poisoning produced haemorrhages and necroses in the nuclei of the primary auditory pathway, no consistent defects were found in rats with permanent deafness.

Heavy doses of 5-nitro-8 hydroxychinoline produced diffuse lesions in the grey matter of the spinal cord.

Key-Words: Antimetabolites of Nicotinamide — Irreversible Motor Disorders — Lesions in the Reticular Formation of the Spinal Cord and Brain Stem.

Zusammenfassung. Es wird über die mit konventionellen Methoden erfaßbaren lichtmikroskopischen Veränderungen im Zentralnervensystem der Ratte nach Intoxikation mit 3-Acetylpyridin und 6-Aminonicotinamid — zwei Nicotinamid-antimetaboliten — und nach 5-Nitro-8-hydroxychinolin berichtet.

3-AP ruft bei der Ratte irreversible komplexe Bewegungsstörungen hervor. 6 Monate nach Intoxikation wurden in den unteren Oliven und im Nucleus dentatus

* Herrn Prof. Dr. W. MASSHOFF zum 60. Geburtstag.

des Kleinhirns mehr oder weniger ausgedehnt Ganglienzelluntergänge gefunden, die jedoch nicht so regelmäßig auftreten, daß durch sie die funktionellen Störungen befriedigend zu erklären sind.

Eine Vergiftung mit 6-AN führt bei der Ratte zu spastischen Paresen der Extremitäten. Sie sind durch konstante morphologische Schädigungen im retikulären Grau des Rückenmarks (Laminae VI—VIII) und in der *Formatio reticularis* des unteren Hirnstammes, speziell durch die partielle Zerstörung der Schaltneurone und die daraus resultierende Deafferenzierung der α -Motoneurone bedingt. Die bleibende Geräuschunempfindlichkeit nach 6-AN wird trotz der im akuten Vergiftungsstadium nachweisbaren Blutungen und Nekrosen im Bereich der primären Hörbahn nicht ausreichend verständlich.

5-Nitro-8-hydroxychinolin führt in hohen Dosen per os zu einer diffusen Schädigung der grauen Substanz des Rückenmarks.

Schlüsselwörter: Antimetaboliten des Nicotinamids — Irreversible Störung der Motorik — Morphologische Veränderung im retikulären Grau von Rückenmark und Hirnstamm.

6-Aminonicotinsäureamid (6-AN) und 3-Acetylpyridin (3-AP) gelten als Antimetaboliten des Nicotinamids, die in vivo zur Bildung von NAD- und NADP-Analogen verwendet werden. Beide Substanzen beeinträchtigen zentralnervöse Funktionen, allerdings in unterschiedlicher Weise (Übersichten siehe COPER u. HERKEN, 1963; COPER, 1966; HERKEN, 1966).

6-AN ruft bei der Ratte nach einer Latenz von mehreren Stunden ein schweres Vergiftungsbild mit Apathie, Adynamie, Tetraparese und Hypothermie hervor. Im weiteren Verlauf kommt es zu blutigen Durchfällen, Nahrungsverweigerung und starker Gewichtsabnahme. Die anfänglich schlaffen Lähmungen der Extremitäten wandeln sich nach etwa 1 Woche in eine irreversible spastische Parese überwiegend der hinteren Extremitäten um. Die Spurbreite des Ganges wird größer. Daneben finden sich Koordinationsstörungen, Tremor und Muskelfibrillieren. Auffällig ist auch die bleibende Geräuschunempfindlichkeit der Tiere. Nach Intoxikation mit 6-AN wurden konstante gewebliche Veränderungen bei Ratten und Katzen vor allem in der grauen Substanz von Rückenmark und Hirnstamm beschrieben [13, 42, 47, 52, 53]. Lokalisation und Verteilungsmuster der histologischen Schäden nach 6-AN sind jedoch nicht ausreichend geklärt.

Nach 3-AP treten bei der Ratte die ersten Symptome wie uncharakteristische Lähmungen, Tonus- und Motilitätsverlust ebenfalls nach einer Latenz von mehreren Stunden auf. Später kommt es zu bizarren Koordinations- und Bewegungsstörungen mit Rollkrämpfen, Hyperkinesen des Rumpfes, des Kopfes und der Extremitäten und Tremor. Auch hier fällt der breitspurige, stelzende spastische Gang besonders der hinteren Extremitäten auf. Die Bewegungsstörungen der sonst lebensfähigen Tiere sind irreversibel. Taubheit und eine so schwere allgemeine Beeinträchtigung wie nach 6-AN werden nicht beobachtet. Gesicherte morpho-

logische Veränderungen am ZNS der Ratte nach 3-AP wurden erst in jüngster Zeit von DENK u. Mitarb. (1968) beschrieben. Die von diesen Autoren für die Funktionsstörungen nach 3-AP als verantwortlich herausgestellte Schädigung der unteren Olive war bereits früher bei der Maus [4] und beim Affen [27] beobachtet worden. Neben den Läsionen im Bereich des Hypothalamus, der Corpora geniculata und des Hirnstammes hatte man zuerst vor allem den umschriebenen Ganglienzellausfällen der Felder CA 3 und CA 4 des Hippocampus Bedeutung beigemessen [4, 10, 25, 27].

Mit dieser Arbeit sollten die Manifestationen am ZNS nach Intoxikation mit 3-AP und 6-AN unter besonderer Berücksichtigung von Spätschäden untersucht werden. Da Paresen und Koordinationsstörungen noch Monate nach der Vergiftung bestehen, dürften morphologische Residuen nach dieser Zeit aufschlußreicher sein als die zum Teil uncharakteristischen Veränderungen bei akut erkrankten Tieren.

Vergleichend dazu wurde die neurotoxische Wirkung von 5-Nitro-8-hydroxychinolin, die zu (zum Teil querschnittsartigen) Lähmungen führt [37], untersucht. Andere Chinolin-Derivate, wie Plasmocid und Plasmochin, können Hirnnervenausfälle und Hirnstammläsionen hervorrufen [40, 36, 41].

Methodik

1. Gruppe. Veränderungen nach 6-AN bei weiblichen Wistarratten (durchschnittliches Gewicht 200–220 g).

Die *subakuten Manifestationen* wurden zunächst nach einer einmaligen und im allgemeinen innerhalb von 48 Std tödlichen Dosis von 50 mg/kg 6-AN i.p. an 6 Tieren *36 Std nach Applikation* untersucht. Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Tötung tetraplegisch und moribund.

Subakut-chronische Veränderungen. 3 weitere Ratten hatten 14 Tage vor der Tötung nach 5tägiger Vorbehandlung mit Cortison 10 mg/kg 6-AN erhalten. Im Gegensatz zu den Beobachtungen von GREENGARD u. Mitarb. (1966) wird der Verlauf der Intoxikation durch Cortison nicht verändert. Die Dosis von 10 mg/kg 6-AN hat schwere spastische Lähmungen zur Folge.

Schließlich wurden 7 weitere Ratten untersucht, die 6 Monate vor der Tötung in Abständen von 14 Tagen fünfmal eine Dosis von 10 mg/kg 6-AN i.p. (insgesamt also 50 mg/kg 6-AN) erhalten hatten. Bei ca. 50%iger Mortalität zeigten die überlebenden Tiere den typischen Endzustand einer 6-AN-Intoxikation (siehe oben).

2. Gruppe. 3 weibliche Ratten des gleichen Stammes, die 6 Monate vor der Untersuchung 75 mg/kg 3-AP erhalten hatten. Diese wurden aus einer Gruppe neurologisch schwer geschädigter Tiere ausgewählt und zeigten die oben beschriebene Symptomatik in besonders ausgeprägtem Maße.

3. Gruppe. Weibliche Ratten des gleichen Stammes hatten 14 Tage vor der Untersuchung 500 mg 5-Nitro-8-hydroxychinolin per Schlundsonde erhalten. Zunächst kommt es zu einer beträchtlichen Alteration des Allgemeinzustandes, die zum Teil künstliche Ernährung erforderlich macht. Nach 8–10 Std schlaffe, aber zum Teil rückbildungsfähige Lähmungen, besonders der hinteren Extremitäten. Einmal wurde ein Querschnittssyndrom beobachtet. Die drei am schwersten betroffenen Tiere wurden zur histologischen Untersuchung herangezogen.

4. Gruppe. Kontrollserie von 10 unbehandelten Ratten des gleichen Stammes, die unter sonst gleichen Bedingungen und im gleichen Raum aufgewachsen waren.

Zur Vermeidung postmortalen Artefakte wurden die durchschnittlich 200 bis 220 g schweren, mit Äther narkotisierten Ratten zunächst mit 50 cm³ Ringer-Lösung, anschließend mit 50 cm³ neutralem 4%igem Formalin perfundiert. Die Präparation von Rückenmark und Gehirn erfolgte etwa 3 Std nach der Perfusion; anschließend Nachfixierung des Gewebes. Das Rückenmark wurde zuerst segmentweise, später wegen der im wesentlichen gleichartigen Veränderungen in größeren Blöcken, ca. 6/Rückenmark, untersucht. Das Gehirn wurde teils in Serienschnitten (Abstand 250 μ , Paraffineinbettung) aufgearbeitet, teils in 2 mm starke Blöcke unterteilt und in Stufenschnitten untersucht.

Färbungen (Schnittdicke 5–20 μ): Hämatoxylin-Eosin, van Gieson, Luxolfast-Blue, PAS, Markscheidenfärbung, Berliner Blau. An Gefrierschnitten (15–20 μ) Goldsublimat-Methode (Cajal), Silberimprägnation nach Bielschowsky, Sudan III.

Bei der mikroskopischen Durchmusterung der Schnitte blieben unspezifische, bei Versuchs- und Kontrolltieren mehrfach zu beobachtende Gliaknötchen oder Gefäßveränderungen unberücksichtigt. Wir bedienten uns bezüglich der anatomischen Nomenklatur der cytoarchitektonischen Rückenmark-Studien von REXED (1954, 1964) und der Darstellung des Hirnstamms der Ratte von WÜNSCHER, SCHÖBER u. WERNER (1965).

Ergebnisse

1. Morphologische Befunde nach 6-AN

Subakute Vergiftung. Etwa 36 Std nach Applikation von 50 mg/kg i.p. spongiöse Auflockerung der Grisea des Rückenmarkes. Exzessive Schwellung der Gliazellen und interstitielles Ödem. Zerfall neuronaler und glöser Elemente (Abb. 1). Ganglienzellen in der Zona intermedia, dorsal und medial der großen motorischen Vorderhornzellen, teils geschwunden, teils erheblich verändert. Zellkörper hyperchromatisch, verdichtet und geschrumpft, manchmal bizarr ausgezogen und deformiert. Teilweise Schwellung der Zelle, Konturverlust und Auflösung. Die Kerne sind geschrumpft und in Chromatintrümmer zerfallen. Nur vereinzelt Neuronophagie. Keine Beeinträchtigung der Achsenzyylinder. Zahlreiche pericapilläre Blutungen in der grauen Substanz und in den weichen Häuten. Vereinzelt Auftreten sudanophiler Substanzen paravasal und pericellulär. Eine Leukodiapedese ist zu diesem Zeitpunkt noch nicht zu beobachten. Das Maximum dieser Ganglienzellschädigung liegt in den Laminae VI–VII (nach REXED) des Rückenmarkgrau. Verschont bleiben die Zona terminalis des Hinterhorns, die Grundbündel und die übrige weiße Substanz.

Im Hirnstamm liegen die wesentlichen und gleichartigen Veränderungen bei der subakuten Intoxikation in den Kerngebieten der motorischen Hirnnerven (III–XII), in deren unmittelbarer Umgebung, in den unteren und oberen Oliven, im Bereich des Trapezkörpers, in den Vestibulariskernen und in den ventralen und dorsalen Cochleariskernen (Abb. 2). Weiter rostral, im Mittel-, Zwischen- und Endhirn erscheinen die Veränderungen weniger ausgeprägt. Isolierter Befall der Augen-

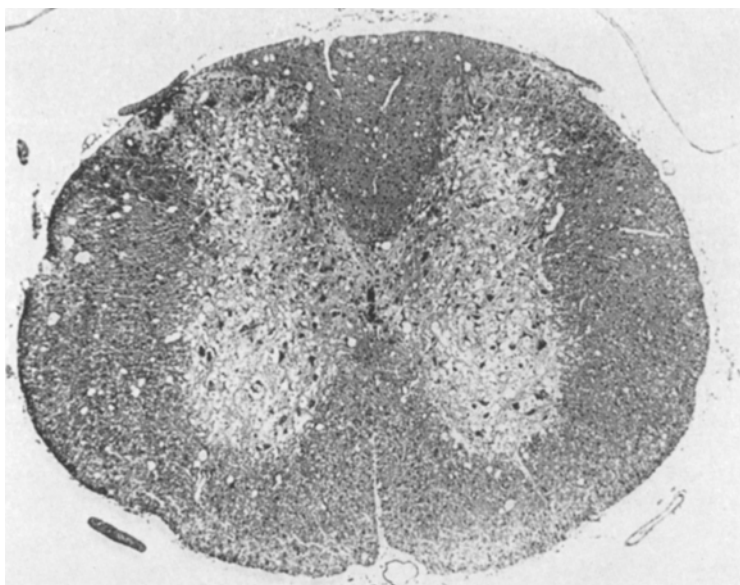


Abb.1. Thorakalmark der Ratte. 36 Std nach i.p. Applikation von 50 mg/kg 6-Aminonicotinamid (H.-E., Vergr. 50fach): diffuser Befall der grauen Substanz von Vorderhorn und Basis des Hinterhorns (Stadium der schlaffen Lähmungen)



Abb.2. Hirnstamm der Ratte 36 Std nach Applikation von 50 mg/kg 6-AN. Diffuse Strukturauflockerung und Blutungen im Bereich des Nucl. dentatus, der Vestibularis- und Cochleariskerne, geringere Veränderungen im Bereich der Formatio reticularis (H.-E., Vergr. ca. 20fach)

nervenerkerne, der Substantia compacta und reticularis des Nucleus niger, des Putamen. Im Hypothalamus finden sich keine eindeutigen Ausfälle. Verschont bleiben auch Großhirnrinde und Hippocampus. *Im Kleinhirn* (Abb. 2) (häufig paraventrikuläre) Blutungen und spongiöse Gewebsauflockerung mit Ganglienzelluntergängen im Nucleus dentatus. Geringes Ödem in der Purkinjeschen Zellschicht ohne charakteristische Zellveränderungen. Die Molekularschicht ist unauffällig.

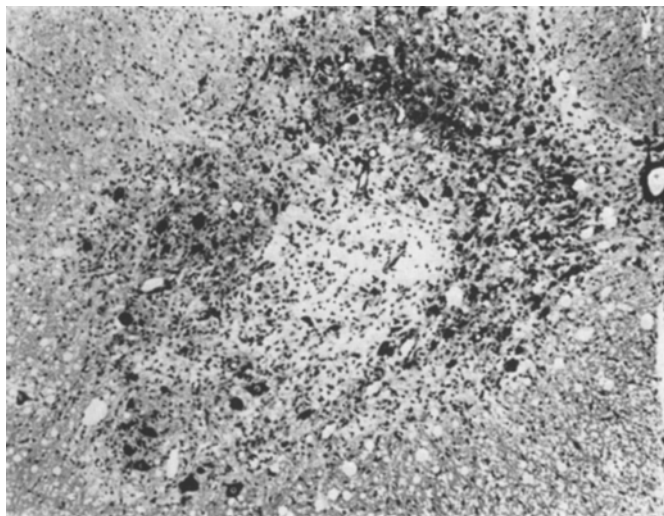


Abb. 3. Cervicalmark der Ratte 14 Tage nach i.p. Applikation von 10 mg/kg 6-AN (Klüver-Barrera, Vergr. 64fach): inkomplette Nekrose in der Intermediärzone (Laminae VI und VII). (Stadium der spast. Lähmungen)

14 Tage nach Intoxikation mit 10 mg/kg 6-AN sind die morphologischen Läsionen umschriebener und gut lokalisierbar. Im Bereich des Rückenmarks (Abb. 3, 4, 5) erhebliche Schädigung der Grisea bei unauffälliger weißer Substanz. In den Schichten VI—VII sind die kleinen Ganglienzellen zwischen den proliferierenden glösen und mesenchymalen Elementen fast vollständig verschwunden. In den Randgebieten sind sie teils nekrotisch (häufig Neuronophagie), teils im Sinne der schweren Zellerkrankung nach Nissl verändert. Die großen motorischen Vorderhornzellen erscheinen auffallend gut erhalten und oft mit ihrer Nissl-Substanz darstellbar. In diesem Stadium der Vergiftung kommt es zu regressiven und progressiven Gliaveränderungen (Abb. 5). Im Zentrum und in den Randgebieten der Rarefaktionsnekrosen der Vorderhörner finden sich Fettkörnchenzellen und gewucherte Astrocyten. In einem Fall wurden zahlreiche Mitosen von Astrocyten (die sich im allgemeinen

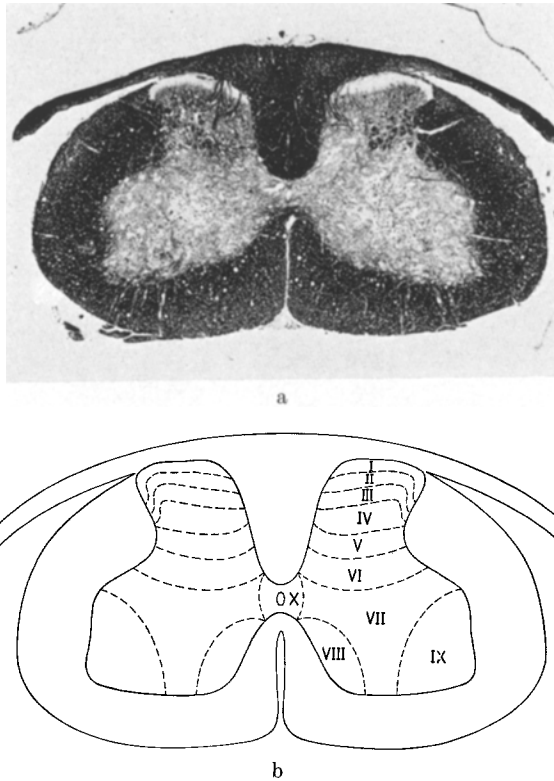


Abb. 4a und b. Cervicalmark der Ratte (wie Abb. 3). Marksheidenbild und schematische Darstellung der Schichten I—X nach REXED (Vergr. ca. 20fach), Marksheidenpräparat, zentrale Rarefikation der grauen Substanz

amitotisch vermehren) in der Metaphase beobachtet. Außer den anfänglichen Diapedeseblutungen zeigen die Gefäße keine hervorstechende Alteration. Die Capillarproliferation, besonders intensiv 14 Tage nach Intoxikation, entspricht dem Verhalten des Mesenchyms bei inkompletten Nekrosen im ZNS.

Das Maximum der durch 6-AN bedingten geweblichen Veränderungen liegt in der Intumescentia cervicalis und lumbalis (C_3 — C_8 , Th_{12} — L_3). Die ersten Halssegmente bleiben auffälligerweise fast verschont.

Schwerere gewebliche Läsionen finden sich erst wieder im verlängerten Mark. Hier entsprechen sie am ehesten gestaltlich und quantitativ den Befunden am Rückenmark, während die Manifestationen weiter rostral weniger intensiv und seltener sind, was gegenüber den sehr konstanten Rückenmarksveränderungen auffällt. Im Bereich der Brücke finden sich meist nur noch Ganglienzellveränderungen ohne begleitende

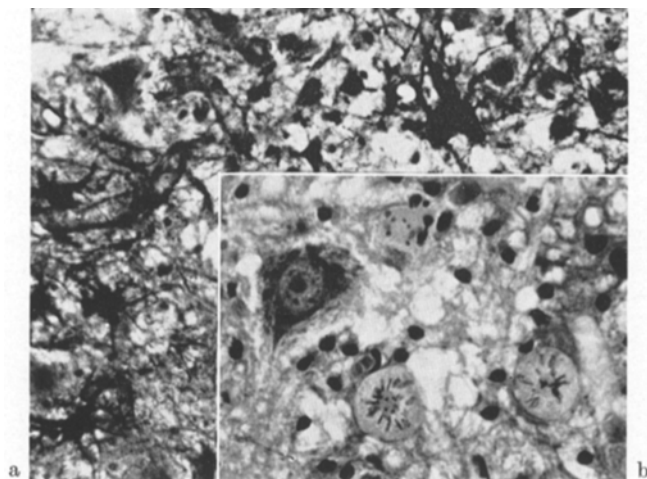


Abb. 5a und b. Cervicalmark der Ratte 14 Tage nach i.p. Applikation von 10 mg/kg 6-AN. Randzone zwischen Laminae IX und VII. a Proliferation der Astroglia (Gold-sublimat, Vergr. 310fach), b Mitosen von Astrocyten in der Metaphase. (H.-E., Vergr. 410fach)

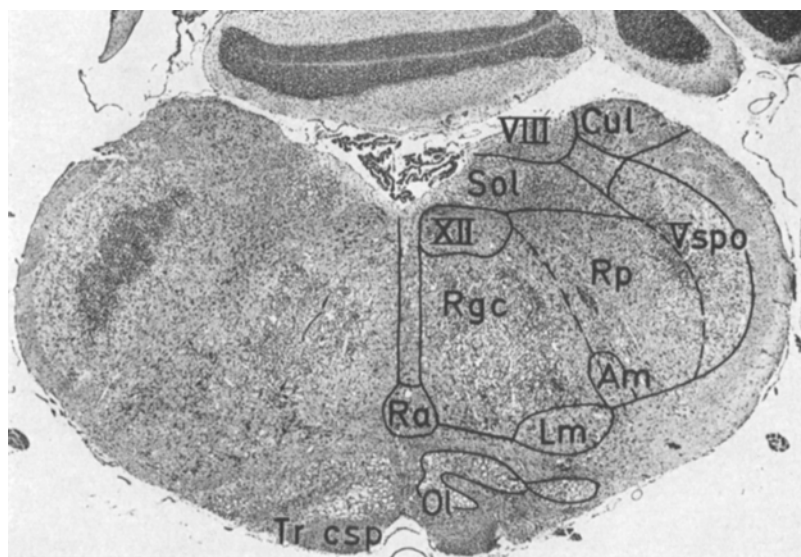


Abb. 6. Medulla oblongata der Ratte nach i.p. Applikation von 10 mg/kg 6-AN. Ödem im Bereich der unteren Olive (*Ol*). Trotz geringen Kontrastes sind die dichten Infiltrate beiderseits im Bereich des Nucl. reticularis gigantocellularis (*Rgc*), des Nucl. reticul. parvocellularis (*Rp*) und des Nucl. oralis tractus spinalis nervi trigemini (*Vspo*) gut zu erkennen. Bei stärkerer Vergrößerung gleiche Veränderungen wie in Abb. 3—5. (*Ra* Rhaphe, *Am* Nucl. ambiguus). (Vergr. ca. 15 fach, Klüver-Barrera)

gliöse oder mesenchymale Reaktion. In der Medulla oblongata regelmäßiger, jedoch verschieden intensiver Befall der medialen und laterodorsalen Kerngruppen der *Formatio reticularis* (nucl. retic. gigantocellularis und parvocellularis) (Abb. 6). Laterodorsal ist der nucl. *Tractus spinalis nervi trigemini* ebenfalls geschädigt. Es resultieren herdförmige inkomplette Nekrosen mit Schwund der Ganglienzellen und Proliferation von Glia und Capillaren. Die Veränderungen im Bereich der motorischen Hirnnervenkerne haben sich weitgehend zurückgebildet, die großen motorischen Ganglienzellen sind unauffällig.

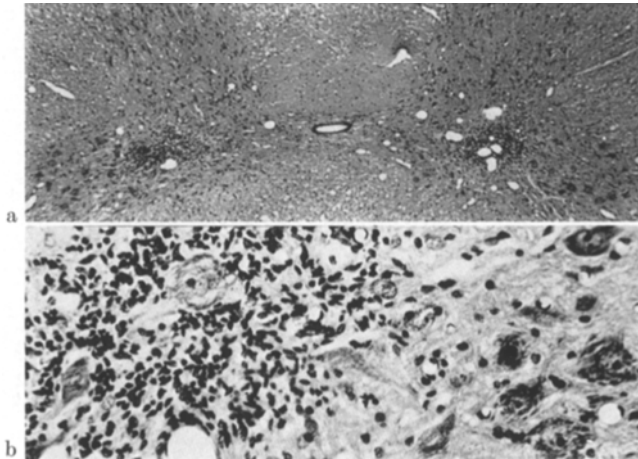


Abb. 7a und b. Rückenmark der Ratte 6 Monate nach Intoxikation mit 6-AN. Symmetrische Rarefaktion und Gliose im Zentrum des Vorderhorns. Halsmark (Abb. 7a, H.-E., Vergr. ca. 40 fach) und Lumbalmark (Abb. 7b, H.-E., Vergr. 180 fach)

Geringe diffuse Gliose im Bereich der Cochlearis- und Vestibulariskerne, herdförmige Ausfälle von Ganglienzellen vor allem im ventralen Cochleariskern. Diffuse Gliavermehrung in den übrigen Kerngebieten der primären Hörbahn. Regelrechte Entmarkungen bestimmter Bahnen sind zu diesem Zeitpunkt nicht zu beobachten. Markscheidenausfälle lediglich in den schwer betroffenen Gebieten der retikulären Formation.

Bei den *Endzuständen* einer 6-AN Intoxikation, mehrere Monate nach Applikation der Antimetaboliten, zeigt sich, daß die im subakuten Stadium der Vergiftung besonders schwer geschädigten Gebiete des ZNS noch immer durch persistierende Gliaherde und Gefäßproliferate markiert sind, sehr deutlich in den Vorderhörnern des Rückenmarks (Abb. 7), im Bereich des unteren Hirnstammes jedoch diskret und weniger konstant. Die Gliaherde mit Astrocyten und überwiegend kleinen, nicht sicher einzuordnenden Zellelementen liegen im Rückenmark dorsal und

medial der recht gut erhaltenen Vorderhornzellen, die zum Teil in diese Infiltrate ohne nennenswerte Veränderungen eingebettet sind. Bei Tieren, die mehrere Monate überlebt haben, sind im Bereich der motorischen Hirnnerven-, der Cochlearis- und Vestibulariskerne und in den Dachkernen des Kleinhirns bleibende gewebliche Veränderungen (außer Hämosiderinablagerungen) nicht nachweisbar.

Zusammenfassend kann über die morphologischen Manifestationen einer Intoxikation mit 6-AN gesagt werden: 6-AN schädigt ausschließlich die graue Substanz, und zwar im wesentlichen die retikulären Strukturen im Rückenmark und unterem Hirnstamm. In zweiter Linie scheinen auch die Endkerne der Nn. vestibularis und cochlearis sowie der Nucleus dentatus des Kleinhirns geschädigt zu werden. Die weiße Substanz ist weder primär noch sekundär im Sinne einer Strangdegeneration betroffen. An den austretenden Nervenwurzeln, den Spinalganglien, den peripheren Nerven, lassen sich keine pathologischen Veränderungen nachweisen. Die Gefäße des Rückenmarks sind stets intakt. Die orientierende Untersuchung anderer Körperorgane, insbesondere endokriner Organe ergab keine Besonderheiten. In der Extremitätenmuskulatur finden sich *vereinzelt* Gruppen untergegangener Muskelfasern.

2. Morphologische Befunde nach 3-AP

Die bereits beschriebenen Ganglienzellausfälle in den unteren Oliven ohne nennenswerte gliöse Reaktionen konnten wir bei zwei von den drei untersuchten Ratten nachweisen. Zusammen mit einer geringgradigen Reduktion der Neuronen und einer fraglichen, jedenfalls diskreten Entmarkung im Nucleus dentatus des Kleinhirns stellen diese Ausfälle das einzige lichtmikroskopische Substrat der 3-AP-Vergiftung dar. Rückenmark, Hirnstamm und Endhirn, einschließlich Hippocampusformation, zeigen, wie auch DENK u. Mitarb. betonen, keine sicheren Veränderungen gegenüber Kontrolltieren.

3. Befunde nach 5-Nitro-8-hydroxychinolin

Nach Intoxikation durch 5-Nitro-8-hydroxychinolin sind wiederum ausgeprägte Veränderungen in der grauen Substanz des Rückenmarks zu beobachten: diffuse, auch auf die großen motorischen Vorderhornzellen übergreifende Schädigung der Ganglienzellen, ohne stärkere gliöse Reaktion. Bei einem moribunden und nur durch künstliche Ernährung am Leben erhaltenen Tier mit Tetraplegie läßt sich bei C₇ eine inkomplette, sich über etwa ein Segment erstreckende Nekrose fast des ganzen Querschnittes der grauen Substanz nachweisen (Abb. 8). Intensive Gliose am Übergang zum intakten Grau des Hinterhorns und zur unversehrten weißen Substanz. Im Inneren der Nekrose Capillarproliferation und

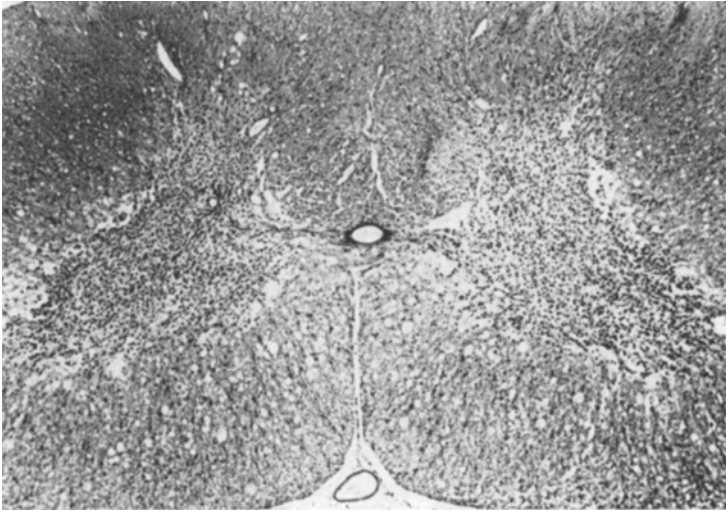


Abb. 8. Cervicalmark der Ratte 14 Tage nach peroraler Verabreichung von 500 mg/kg 5-Nitro-6-hydroxychinolin. Inkomplette Nekrose des gesamten Vorderhorns und eines großen Teils der Hinterhornbasis (ca. Laminae V—IX). (H.-E., Vergr. 50fach)

massenhaft Fettkörnchenzellen. Hirnstamm, Groß- und Kleinhirn ohne auffallende Befunde.

Diskussion

Die Beurteilung neurotoxischer Substanzen wird erschwert durch unterschiedliche Empfindlichkeit der einzelnen Tierspecies, durch Unterschiede im methodischen Vorgehen, wegen der geringen Spezifität geweblicher Veränderungen am ZNS und der oft fehlenden Korrelation von Funktionsausfall und morphologisch faßbarer Läsion. Die vielen, spurlos ablaufenden Prozesse machen deutlich, daß nicht jede Funktionsstörung von einer geweblichen Veränderung begleitet sein muß. Die meist unspezifische Reaktionsweise des ZNS auf sehr verschiedene Intoxikationen erklärt sich einerseits aus der geweblichen Struktur, andererseits aus den wenigen für das ZNS relevanten pathogenetischen Prinzipien [31].

Die motorischen Ausfälle bei Mangelzuständen (auch bei Nicotinamidmangel [23, 30]) oder nach Einwirkung neuro-toxischer Verbindungen zeigen weder in funktioneller noch in anatomischer Hinsicht strenge Gesetzmäßigkeiten. Es gibt fließende Übergänge von polyneuritischen Syndromen zu Myelopathien, bei denen graue und weiße Substanz isoliert oder gleichzeitig geschädigt sind. Die Grisea des Rückenmarks und des Hirnstammes ist bei einem Teil der Intoxikationen in uncharakteristischer Weise betroffen. Spezifischer scheinen die Ausfälle nach Arsen und

Dysenterietoxin [26,31] zu sein. Die graue Substanz von Rückenmark und Hirnstamm ist auch bei Viruserkrankungen besonders vulnerabel. Die durch Ischämie und Hypoxie erzeugbaren funktionellen und morphologischen Ausfälle der Grisea im RM sind seit langem bekannt [1,11,12,21,44,50]. Hier ist insofern eine Akzentverschiebung eingetreten, als bei hypoxischen Zuständen nicht mehr die großen Vorderhornzellen, sondern die kleinen Interneuronen der Schichten VI und VII (nach REXED) als besonders empfindliche Elemente gelten.

Die beiden Nicotinamidantimetaboliten 3-AP und 6-AN sind in verschiedener Hinsicht bemerkenswert. Sie rufen komplexe und irreversible neurologische Ausfälle bzw. Hyperkinesen hervor, die trotz der strukturellen Verwandtschaft von 3-AP und 6-AN grundsätzlich verschieden sind. Dabei ist besonders bemerkenswert, daß durch 6-AN definierte und reproduzierbare strukturelle Veränderungen am ZNS hervorgerufen werden, während ein morphologisches Korrelat zur 3-AP-Wirkung bis heute noch nicht gesichert ist. Eine Erklärung für die Diskrepanz im pharmakologischen Effekt der Nicotinamidanaloge ist vielleicht darin zu sehen, daß 6-AN durch irreversible Schädigung bestimmter Strukturen echte Ausfälle (Spastik, Paresen, Taubheit) verursacht, während die mehr „produktive“ Symptomatik von 3-AP die Erhaltung der für die Hyperkinesen verantwortlichen Strukturen voraussetzt. Sicher erlaubt die Untersuchung von 3 Tieren 6 Monate nach der Intoxikation mit 3-AP keine endgültige Aussage. Andererseits bestehen auch in der Literatur noch keine klaren Vorstellungen über das morphologische Substrat der 3-AP Intoxikation [25]. Es muß offen gelassen werden, ob die Schädigung der unteren Oliven und des Nucleus dentatus die motorischen Phänomene ausreichend erklären kann. Die Befunde von HICKS konnten auch von uns nicht bestätigt werden, und es bleibt zweifelhaft, ob die im akuten Vergiftungsstadium gefundenen Hippocampusveränderungen [4,27] in bleibende morphologische Defekte auslaufen. 6 Monate nach der Intoxikation konnten wir am Hippocampus der Ratte lichtmikroskopisch keine Auffälligkeiten erkennen.

Das bizarre hyperkinetische Syndrom nach 3-AP hat weitgehend Ähnlichkeit mit genetisch bedingten Bewegungsanomalien von Mäusen und Ratteninzuchtstämmen („waltzing syndrome“) und den durch eine Reihe chemisch heterogener Verbindungen (Arsacetin [38]), chlorierte tertiäre Amine [14], Imino-dipropionitril (IDPN) [3,8,43,45,46]) hervorgerufenen, meist irreversiblen Störungen. Soweit neuropathologische Befunde bekannt sind, wurden bei diesen Vergiftungen, besonders nach IDPN, charakteristische Ganglienzell- und Axonveränderungen im Hirnstamm und im Vorderhorn des Rückenmarks beobachtet. Ein Vergleich der funktionellen und morphologischen Ausfälle nach diesen Substanzen und 3-AP steht noch aus.

Bei der Intoxikation mit 6-AN lassen die schwere allgemeine Beeinträchtigung der Versuchstiere und die im histologischen Bild recht diffusen Veränderungen im ZNS nach 36 Std noch nicht auf den Endzustand schließen. Offenbar ist die anfängliche Schädigung teilweise reversibel; geschädigte Ganglienzellen erholen sich wieder, das Ödem bildet sich zurück, die Blutungen werden resorbiert — entsprechend der klinischen Besserung der Tiere. Es liegt nahe, das morphologische Substrat der bleibenden neurologischen Ausfälle in den Rarefiktionsnekrosen der Vorderhörner des Rückenmarks zu sehen. Bisher wurde die Schädigung im dorsomedialen Gebiet des Vorderhorns nicht genügend berücksichtigt und die Veränderungen der Vorderhornzellen überbewertet. Die Spätfunde nach 6-AN beweisen geradezu die Erholungsfähigkeit der großen Vorderhornzellen, während das Gebiet der Schaltneuronen irreversibel geschädigt bleibt. Gleiches gilt für die Veränderungen im verlängerten Mark und in der Brücke. Die bleibenden und wahrscheinlich für die Funktionsausfälle bedeutsamen Defekte liegen in den medialen und dorsolateralen Gebieten der *Formatio reticularis*.

Sowohl die anatomische Ausdehnung als auch die Begriffsbestimmung der *Formatio reticularis* (F. r.) ist umstritten [29, 10, 20, 24, 33, 15]. Obwohl es sich ursprünglich um einen morphologischen Begriff handelte, scheint die etwas paradoxe Situation zu bestehen, "that the reticular formation should now be regarded as an ill-defined anatomical concept corresponding to an useful physiological notion" [33]. Golgi-Studien [24, 33, 48] haben jedoch in den letzten Jahren die strukturelle und entwicklungsgeschichtliche Einheit der retikulären Kerngebiete in Hirnstamm und Rückenmark durch den Nachweis eines einheitlichen Dendritencharakters bestätigt. Danach stellt die *Formatio reticularis* (F. r.) im engeren Sinne ein isodendritisches Kerngebiet („isodendritic core“) [33] dar, das als säulenartiges, aus kurzen Neuronenketten und Neuronennetzen bestehendes Kontinuum sich vom caudalen Rückenmark bis in das Endhirn erstreckt und eine Art Matrix für die phylogenetisch jüngeren Strukturen bildet.

Die F. r. hat im Bereich des unteren Hirnstammes und des Rückenmarks als „absteigendes retikuläres System“ entscheidenden Einfluß auf die Motorik als suprasegmentales Zentrum für Muskeltonus, Körperhaltung, Koordination und Primitivbewegungen mit der Fähigkeit zur Eigenrhythmik. Die von hier ausgehenden und endigenden Verbindungen zum Rückenmark sind genau genommen reticulo-retikuläre Bahnen [24]. Die im Vorderstrang verlaufenden *Tractus vestibulo-spinales med. und lat., reticulo-, tecto- und interstitio-spinales* endigen in verschiedener Höhe in den Schichten (VI), VII und VIII des Rückenmarksgrau an (retikulären) Zwischenneuronen. Die phylogenetisch jüngeren cortico- und rubrospinalen Bahnen verlaufen im Seitenstrang und enden überwiegend in den Schichten IV—VII. Nur ein Bruchteil all dieser Fasern erreicht direkt die großen Motoneuronen in *lamina IX* [28].

Im Hirnstamm manifestiert sich die 6-AN-Intoxikation in dem medialen, großzelligen und in dem dorsolateralen, kleinzelligen Gebiet der F. r. (bezüglich Struktur und funktionelle Bedeutung dieser Areale siehe [10, 15, 20, 22, 48, 49]). Wahrscheinlich ist auch das rostral liegende „aufsteigende retikuläre System“ im Anfangsstadium der 6-AN-Vergif-

tung in Mitleidenschaft gezogen, wie die schweren Einzelzellveränderungen und die von COPER u. Mitarb. beobachtete Verlängerung der Eviparnarkose und die Störung der Temperaturregulation erkennen lassen.

Beim Menschen erzeugt 6-AN irreversible Schäden des Gehörs [18, 32], weitere neurologische Störungen wurden wegen vorzeitigen Absetzens des als Cytostaticum erprobten 6-AN nicht beobachtet. GELLER u.a. konnten bei der Maus nach 20 mg/kg 6-AN zwar Taubheit hervorrufen, aber keine sicheren Schäden im Bereich der primären Hörbahn finden. Wir haben unter Anwendung höherer Dosen bei der Ratte Blutungen und umschriebene Nekrosen in den Cochleariskernen (besonders ventral), in der oberen Olive, im Trapezkörper und im Colliculus caudalis gefunden. Da trotz völliger Geräuschunempfindlichkeit der Versuchstiere im Langzeitversuch keine bleibenden geweblichen Läsionen beobachtet werden, ist die zusätzliche Schädigung des Cortischen Organs zu erwägen [13]. GELLER u.a. beschrieben übrigens auch Hirnstammveränderungen, die unseren Befunden entsprechen könnten.

Trotz detaillierter neurophysiologischer Kenntnisse über die Organisation des Rückenmarks ist es bisher nicht möglich, Zelltypen wie die γ -Motoneuronen oder die Interneuronen vom Renshaw-Typ histologisch zu differenzieren [9, 39]. Wahrscheinlich liegen diese Zellen zwischen den α -Motoneuronen selbst und in den Laminae VIII (γ -Motoneurone, [35]) bzw. VII (Renshaw-Zellen, [35, 51]). Es ist anzunehmen, daß diese Zellen mit den übrigen Zwischenneuronen bei der Intoxikation mit 6-AN betroffen sind und daß eine teilweise Deafferenzierung der α -Motoneuronen resultiert. Die Spastik und Rigidität nach 6-AN setzt die — wenigstens partielle — Intaktheit der großen motorischen Vorderhornzellen voraus.

Auf die Spezifität der 6-AN-Schädigung und das Problem der Vulnerabilität soll hier nicht eingegangen werden. Es ist sicher, daß außer 6-AN eine Reihe weiterer Substanzen histologische Veränderungen am retikulären Grau von Rückenmark und Hirnstamm erzeugen kann. Hier wäre das 5-Nitro-8-hydroxychinolin zu nennen, das nach unseren Untersuchungen ebenfalls an der grauen Substanz des Rückenmarks schwere Schäden hervorruft. Diese Form der Myelomalacie ähnelt der von CHIARI (1913) beschriebenen Komplikation einer Salvarsanbehandlung. Die geweblichen Veränderungen unterscheiden sich jedoch deutlich vom Bild der Vergiftung durch 6-AN.

Wenn es auch scheint, daß die Läsionen nach 6-AN charakteristisch sind, müßten weitere vergleichende Untersuchungen erst die Spezifität dieser Befunde beweisen. Die Lokalisation der geweblichen Veränderungen nach 6-AN mag einerseits durch eine besondere Stoffwechselsituation in diesen Gebieten bedingt sein. Es wäre möglich, daß eine Störung im Pyridinnucleotidstoffwechsel durch Bildung von 6-AN-Analogen des

NAD(P) im Gehirn für die Entstehung der geweblichen Veränderungen verantwortlich ist [5,6,7,17]. Dieses „falsche“ Coenzym kann nicht hydriert werden und sogar den Wasserstofftransport in einigen Dehydrogenasereaktionen hemmen. Andererseits sind aber auch gefäßsystembedingte Faktoren zu berücksichtigen, wie die auffallende Parallele der funktionellen und morphologischen Ausfälle nach Kreislaufstörungen und Hypoxie zeigt [12,21,50].

Wir danken Fräulein B. HATTWICH für die ausgezeichnete technische Mitarbeit.

Literatur

1. ALTMANN, H. W., u. H. SCHUBOTHE: Funktionelle und organische Schädigung des Zentralnervensystems der Katze im Unterdruckexperiment. Ziegl. Beitr. path. Anat. allgem. Path. **107**, 3—116 (1942).
2. CHIARI, H.: Über eine nach Salvarsaninjektion aufgetretene Myelitis. Verh. dtsh. Ges. Path. **155**—161 (1913).
3. CHOU, S. M., and H. A. HARTMANN: Axonal lesions and waltzing syndrome after IDPN-administration in rats. Acta neuropath. (Berl.) **4**, 590—603 (1965).
4. COGGESHALL, R. E., and P. D. McLEAN: Hippocampal lesions following administration of 3-acetylpyridine. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **98**, 687—689 (1958).
5. COPER, H.: Stoffwechselstörungen durch Antimetaboliten des Nicotinamids. In: B-Vitamine, S. 275—291. Hrsg. H. Frhr. von KRESS u. K. U. BLUM. Stuttgart: Schattauer 1966.
6. — H. HADASS u. H. LISON: Untersuchungen zum Mechanismus zentralnervöser Funktionsstörungen durch 6-Aminonicotinamid. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path. **255**, 97—106 (1966).
7. —, u. H. HERKEN: Schädigung des Zentralnervensystems durch Antimetaboliten des Nikotinsäureamids. Dtsch. med. Wschr. **88**, 2025—2036 (1963).
- 7a. DENK, H., M. HAIDER, W. KOVAC u. G. STUDYNKA: Verhaltensänderung und Neuropathologie bei der 3-Acetylpyridinvergiftung der Ratte. Acta neuropath. (Berl.) **10**, 34—44 (1968).
8. DIEZEL, P. B., u. G. ULE: Histochemische Untersuchungen an den „ghost-cells“ beim experimentellen Neurolathyrismus. Acta neuropath. (Berl.) **3**, 150 bis 163 (1963).
9. ECCLES, J. C.: Functional organization of the spinal cord. Anesthesiology **28**, 31—45 (1967).
10. FEREMUTSCH, K., u. K. SIMMA: Beitrag zur Kenntnis der „Formatio reticularis, medullae oblongatae et pontis“ des Menschen. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. **121**, 271—291 (1959).
11. GELFAN, S., and A. F. RAPISARDA: Synaptic density on spinal neurons of normal dogs and dogs with experimental hind-limb rigidity. J. comp. Neurol. **123**, 73—96 (1964).
12. — and I. M. TARLOW: Altered neuron population in L 7 segment of dogs with experimental hind-limb rigidity. Amer. J. Physiol. **205**, 606—616 (1963).
13. GELLER, L. M., D. COWEN, and A. WOLF: Effect of the antimetabolite 6-aminonicotinamide on sound-induced seizures in mice. Exp. neurol. **14**, 86—98 (1966).
14. GOLDIN, A., H. A. NOE, B. H. LANDING, D. M. SHAPIRO, and B. GOLDBERG: A neurological syndrome induced by administration of some chlorinated tertiary amines. J. Pharmacol. exp. Ther. **94**, 249—261 (1948).

15. GRANTYNE, A. A.: Morphology, topography and connections of the medulla oblongata and the pons of the cat. *Progr. Brain Res.* **20**, 128—147 (1967).
16. GREENGARD, P., E. B. SIGG, J. FRATTA, and S. P. ZAK: Prevention and remission by adrenocortical steroids of nicotinamide deficiency disorders and of 6-aminonicotinamide toxicity in rats and dogs. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **154**, 624—631 (1966).
17. HERKEN, H.: Die Wirkung von Antimetaboliten auf den Zellstoffwechsel der Warmblüter. *Internist* **7**, 375—391 (1966).
18. HERTER, F. P., S. G. WEISMAN, H. G. TOMPSON, G. HYMAN, and D. S. MARTIN: Clinical experience with 6-aminonicotinamide. *Cancer Res.* **21**, 31—37 (1961).
19. HICKS, S. P.: Pathologic effects of antimetabolites. I. Acute lesions in the hypothalamus, peripheral ganglia and adrenal medulla caused by 3-acetylpyridine and prevented by nicotinamide. *Amer. J. Path.* **31**, 189—200 (1955).
20. HOFF, A.: Allgemeine Morphologie der neurovegetativen Regulationen. Handbuch Allgem. Pathologie, Band 8/2, S. 201—284. Neurovegetative Regulationen. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
21. JELLINGER: Zur Orthologie und Pathologie der Rückenmarksdurchblutung. Wien: Springer 1966.
22. KUYPERS, H. G. J. M.: The descending pathways to the spinal cord, their anatomy and function. In: Organization of the spinal cord. *Progr. Brain Res.* **11**, 178—202 (1964).
23. LEIGH, D.: Pellagra and the nutritional neuropathies. A neuropathological review. *J. ment. Sci.* **98**, 130—141 (1952).
24. LEONTOVICH, T. A., and G. P. ZHUKOVA: The specificity of the neuronal structure and topography of the reticular formation in the brain and spinal cord carnivora. *J. comp. Neurol.* **121**, 347—380 (1963).
25. LIERSE, W.: Ultrastrukturelle Hirnveränderungen der Ratte nach Gaben von 3-Acetylpyridin. *Z. Zellforsch.* **67**, 86—95 (1965).
26. LOTHMAR, F.: Die Wirkung des Dysenterietoxins auf das Zentralnervensystem. *Z. ges. Neurol. Psychiat.* **8**, 345—351 (1912).
27. McLEAN, P. D.: Comments on the selective vulnerability of the hippocampus. In: Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia, pp. 177—181. Hrsg. SCHADÉ and McMENEMEY. Oxford: Blackwell 1963.
28. NYBERG-HANSEN, R.: Functional organization of descending supraspinal fibre systems to the spinal cord. Anatomical observations and physiological correlations. *Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.* **39**, 1—46 (1966).
29. OLSZEWSKI, J., and D. BAXTER: Cytoarchitecture of the human brain stem. Basel-New York: Karger 1954.
30. PENTSCHKEW, A.: Über die Histopathologie des Zentralnervensystems bei der Psychosis pellagrosa. *Z. ges. Neurol. Psychiat.* **118**, 17—48 (1929).
31. — Intoxikationen, Handbuch spez. path. Anat. und Histologie, Band 13/IIB, S. 1907—2502. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.
32. PERLLA, C. P., S. KOFMAN, H. SHY-PECK, and S. A. TAYLOR: Clinical use of 6-aminonicotinamide in patients with disseminated neoplastic disease. *Cancer* **14**, 644—648 (1961).
33. RAMÓN-MOLINER, E., and W. J. H. NAUTA: The isodentritic core of the brain stem. *J. comp. Neurol.* **126**, 311—336 (1966).
34. REDEX, B.: A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J. comp. Neurol.* **100**, 297—379 (1954).
35. — Some aspects of the cytoarchitectonics and synaptology of the spinal cord. In: Organization of the spinal cord. *Progr. Brain Res.* **11**, 58—92 (1964).

36. RICHTER, R.: The effects of certain quinoline compounds upon the nervous system of monkeys. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **8**, 155—170 (1949).
37. ROESCH, E., A. ROESCH u. D. HOFFTER: Polyneuropathie durch 5-nitro-8-hydroxychinolin in Tierexperimenten. *Arch. Toxikol.* **20**, 313—322 (1965).
38. ROTHIG, P.: Weitere Untersuchungen am Zentralnervensystem von mit Arsacetin behandelten Mäusen (sogenannten künstlichen Tanzmäusen). *Frankfurt. Z. Path.* **3**, 273—282 (1909).
39. SCHEIBEL, M. E., and A. B. SCHEIBEL: Spinal motoneurons, interneurons and Renshaw cells. A Golgi study. *Arch. ital. Biol.* **104**, 328—353 (1966).
40. SCHMIDT, J. H., and L. H. SCHMIDT: Neurotoxicity of the 8-aminoquinolines. I. Lesions in the central nervous system of the rhesus monkey induced by administration of plasmocid. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **7**, 368—398 (1948).
41. — — III. The effects of pentaquine, isopentaquine, primaquine and pamaquine on the central nervous system of the rhesus monkey. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **10**, 229—256 (1951).
42. SCHOTLAND, D. L., D. COWEN, L. M. GELLER, and A. WOLF: A histochemical study of an antimetabolite, 6-aminonicotinamide, on the lumbal spinal cord of the adult rat. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **24**, 97—107 (1965).
43. SELYE, H.: Lathyrism. *Rev. canad. Biol.* **16**, 1—82 (1957).
44. SICKINGER, K., C. H. SCHWEIKERT, E. G. KANIAK, G. RICHTER, K. WIEMERS u. W. OVERBECK: Extracorporaler Kreislauf — tiefe Hypothermie — langdauernder Kreislaufstillstand. *Pathologisch-histologische Befunde am Hund. Beitr. path. Anat.* **125**, 256—279 (1961).
45. SLAGEL, D. E., and H. A. HARTMANN: The distribution of neuroaxonal lesions in mice injected with IDPN with special reference to the vestibular system. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **24**, 599—620 (1965).
46. STAEMMLER, M., u. F. LAGLER: Anatomische Beobachtungen beim experimentellen Neurolathyrismus. *Zbl. allg. Path. Anat.* **107**, 233—241 (1965).
47. STERNBERG, S. S., and F. S. PHILIPS: 6-aminonicotinamide and acute degenerative changes in the central nervous system. *Science*, **127**, 644—646^{*} (1958).
48. VALVERDE, F.: Reticular formation of the albino rats brain stem. *Cytoarchitecture and corticofugal connections. J. comp. Neurol.* **119**, 25—49 (1962).
49. — The pyramidal tract in rodents. A study of its relation with the posterior column nuclei, dorsolateral reticular formation of the medulla oblongata and cervical spinal cord. *Z. Zellforsch.* **71**, 297—363 (1966).
50. VAN HARREFELD, A., and J. P. SCHADÉ: Nerve cell destruction by asphyxiation of the spinal cord. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **21**, 410—423 (1962).
51. WILLIS, W. D., and J. C. WILLIS: Properties of interneurons in the ventral spinal cord. *Arch. ital. Biol.* **104**, 354—386 (1966).
52. WOLF, A., and D. COWEN: Pathological changes in the central nervous system produced by 6-aminonicotinamide. *Bull. N. Y. Acad. Med.* **35**, 814—817 (1959).
53. — — and L. M. GELLER: Structural and functional effects of 6-aminonicotinamide and other antimetabolites on the central nervous system; in: *Proc. IVth. Intern. Congr. Neuropathol.*, Vol. III, pp. 447—453. Stuttgart: G. Thieme 1962.
54. WÜNSCHER, W., W. SCHÖBER u. L. WERNER: *Architektonischer Atlas vom Hirnstamm der Ratte.* Leipzig: S. Hirzel 1965.

Dr. H. SCHNEIDER
I. Medizinische Klinik
der Freien Universität
1000 Berlin 19, Spandauer Damm 130

Prof. Dr. H. COPER
Institut für Neuropsychopharmakologie
der Freien Universität
1000 Berlin 19, Ulmenallee 30