

5. DISKUSSION

5.1 METHODIK

Folgende Untersuchungsmethoden wurden angewendet:

1. Rasterelektronenmikroskopische Technik:

Diese Technik wurde zur dreidimensionalen Darstellung der Granulationen im Dura-sinus verwendet, wobei das äußere Blatt der Dura mater entfernt wurde. Die bei der herkömmlichen Schlachtung häufig auftretenden subduralen Hämatome spielen bei dieser Untersuchungsmethode eine untergeordnete Rolle, da das Präparat vor der Untersuchung von dem geronnenen Blut befreit wurde und sind daher für eine korrekte Beurteilung des Gewebes nicht ausschlaggebend. Aus diesem Grunde konnten auch Tiere aus dem Institut für Geflügelkrankheiten, die nach herkömmlicher Methode durch einen Schlag auf den Kopf betäubt und dann entblutet wurden, verwendet werden.

2. Immunhistologische und transmissionselektronenmikroskopische Methoden:

Diese Untersuchungsmethoden bedürfen der Unversehrtheit aller meningealen Abschnitte, da jegliche Artefakte, wie z. B. subdurale Hämatome, die Schnittpräparate unbrauchbar machen würden. Deshalb wurden hier ausschließlich Tiere aus der institutseigenen Hühnerzucht verwendet, die durch Pentobarbital-, bzw. Ketamin-Xylazin-Injektionen euthanasiert wurden.

Besonderes Interesse der vorliegenden Untersuchungen galt unter anderem der Abgrenzung einzelner Zellen der Arachnoidealgrenzschicht und des Neurothels auf ultrastruktureller Ebene. Dazu wurden die Meningen mit Lanthannitrat kontrastiert, um eine Aussage über die Zellform der Arachnoidealgrenzschicht- und Neurothelzellen zu ermöglichen. Lanthannitrat ist eine Metallverbindung, die sich in den Interzellularspalten anreichert und somit deutlich die einzelnen Zellgrenzen ultrastrukturell erkennen lässt.

Die Perfusion mit Lanthannitrat brachte keine zufriedenstellenden Ergebnisse, da der größte Anteil des Lanthannitrats in den Gefäßen verblieb und die meisten meningealen Gewebe nicht kontrastiert wurden, wohingegen die Immersion mit Lanthannitrat zu einer guten Kontrastierung des Gewebes führte.

Wegen der besonderen Morphologie des Cavum subarachnoideale und seiner Ähnlichkeit mit einem lymphoretikulären Gewebe wurde nach einer geeigneten Technik gesucht, um die Faserqualität der Fibrillen im Cavum subarachnoideale und in der Arachnoidea zu bestimmen. Immunhistologische Nachweise führten bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial nicht zu einem auswertbaren Ergebnis. Zum einen reagieren die meisten handelsüblichen Antikörper nicht kreuz oder sind nur an Kryostatschnitten, nicht aber an Paraffinschnitten durchführbar. Die Herstellung von Kryostatschnitten erwies sich aufgrund der Zartheit des Gewebes als sehr schwierig, da der Antikörper eine vorherige Fixation des Gewebes nicht zuließ. Aus diesen Gründen wurde schließlich der Silberimprägnationstechnik nach GOMORI der Vorzug gegeben, um die Faserqualität zu bestimmen. Auch wenn diese Methodik heutzutage veraltet erscheint, wurde sie in den letzten Jahren von anerkannten Wissenschaftlern, wie BERGMANN et al. (1997) und COLOVIC et al. (1999), angewendet und sogar zu quantitativen Bestimmungen herangezogen. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Technik nur zur Abgrenzung der größeren kollagenen Fibrillen (braun gefärbt) von den kleineren retikulären Fibrillen (schwarz gefärbt) benutzt.

Um herauszufinden, ob das Neurothel beim Huhn einen eigenen Abschnitt der Hirnhäute darstellt oder aber ein Teil der Arachnoidea bzw. der Dura mater ist, wurde der Vimentin-Nachweis mit einem monoklonalen Antikörper gewählt. Die Intermediärfilamente vom Vimentin-Typ kommen vor allem in Geweben mesenchymalen Ursprungs vor. Die mit dem Antikörper positiv reagierenden Zellen stellen sich lichtmikroskopisch deutlich dar. Da Intermediärfilamente im Zytoplasma lokalisiert sind, hebt sich dieses im lichtmikroskopischen Bild deutlich hervor, während die Zellkerne durch reaktionsnegative Aussparungen identifiziert werden können. Bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial zeigte sich die Reaktion mit dem Antikörper besonders deutlich in der Arachnoideagrenzschicht, das Neurothel hingegen blieb unmarkiert. Durch die chemischen und physikalischen Einflüsse während der Aufbereitung des Materials wird die Leptomeninx stärker beeinträchtigt als das straffe, derbe Gewebe der Dura mater. Die Leptomeninx löst sich in der Regel von der Dura mater ab und das Neurothel bildet somit die äußerste Schicht der Untersuchungsobjekte. Bei dieser Technik neigt der Antikörper dazu, sich an die äußersten Gewebsgrenzen anzulagern, was häufig zu falsch positiven Ergebnissen an den äußeren Zellschichten führt. Die Stärke der Reaktion ist von der vorausgegangenen Behandlung des Gewebes abhängig. Eine Vorbehandlung mit 0,05 %igem Trypsin ergibt stärkere Reaktionen als eine Mikrowellenvorbehandlung. Andererseits bleibt das zu untersuchende Gewebe bei der Mikrowellenvorbehandlung fast vollständig erhalten, so dass die Zuordnung der einzelnen meningealen Abschnitte unproblematisch ist, während eine Vorverdauung mit Trypsin das Gewebe teilweise derart stark schädigt, dass eine Differenzierung der einzelnen Strukturen nicht mehr möglich ist. Der Vimentin-Nachweis kann zwar zur Abgrenzung einzelner Gewebe herangezogen werden, ist aber nicht dazu geeignet, eine Aussage über die Zuordnung eines Gewebes zu den Keimblättern zu treffen, da nicht nur Zellen mesodermalen Ursprungs positiv mit dem Antikörper reagieren, sondern z. B. auch die Astroglia (MULAS et al., 1994), sowie das Plexusepithel und das Ependym (KASPER et al., 1986), die neuroektodermalen Ursprungs sind. Die Expression der Intermediärfilamentproteine richtet sich nach neueren Erkenntnissen nach der Funktion und nicht nach dem Ursprung des Gewebes (ACHTSTÄTTER et al., 1989).

Aufgrund der immer noch nicht vollständig geklärten Frage einer möglichen Liquorresorption durch die Pacchionischen Granulationen lag es im besonderen Interesse, die Oberflächenstruktur der Granulationen darzustellen. Da ein zweidimensionales Schnittbild nur in einer Schnittserie Oberflächenrekonstruktion erlaubt, erschien die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der gesamten Granulationsoberfläche als Mittel der Wahl. Zunächst wurde versucht, die Vv. cerebrales dorsorostrales und den Sinus olfactorius mit einem Kunststoff zu füllen, um einen Abdruck der Granulationsoberfläche in diesen Gefäßen rasterelektronenmikroskopisch untersuchen zu können. Die zu diesem Zweck durchgeführten Gefäßausgüsse der meningealen Venen mit drei verschiedenen polymerisierenden Kunststoffen führten aus mehreren Gründen zu nicht zufriedenstellenden Ergebnissen: Zum einen handelt es sich bei den zu füllenden meningealen Gefäßen um sehr kleine und zarte Gebilde, die sich direkt unter der Schädelkalotte befinden. Dieser Umstand erlaubte es nicht, eine vollständige Gefäßfüllung mit Kunstharz zu erreichen, da eine Ausdehnung innerhalb der knöchernen Schädelkalotte nur beschränkt möglich ist. Zum anderen musste zur rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung das ausgegossene Gefäß von allen Gewebsrückständen vollständig befreit werden. Da aber in diesem Bereich sowohl sehr weiches Gewebe (Gehirn), als auch sehr hartes Gewebe (Schädelknochen) in enger Nachbarschaft vorliegt und die polymerisierenden Kunststoffe ihrerseits auch nicht inert auf die verschiedenen Mazerationsmedien reagieren, musste eine Kompromisslösung gefunden werden: Wurde der Schädel durch hohe Salzsäurelösungen vollständig entfernt, löste sich auch der Kunststoff mit auf, wurde auf eine aggressive Mazeration verzichtet, erhielt man zwar ein vollständiges Kunststoffpräparat, dieses war jedoch stark mit Gewebsrückständen behaftet, so dass eine exakte rasterelektronenmikroskopische Beurteilung der Granulationsoberfläche nicht möglich war.

Nachdem die organischen Anteile entfernt worden waren, stellte sich zudem heraus, dass die kleineren bis kleinsten Gefäße nicht vollständig gefüllt waren, bzw. im Rahmen der Mazeration zerstört worden waren und die Zuordnung der einzelnen Gefäße dadurch große Schwierigkeiten bereitete. Ein weiterer wichtiger Punkt, weswegen anderen Methoden der Vorzug gegeben wurde, war, dass sich einige Granulationen nur tangential an das Endothel des Durasinus anlegen, und sich dadurch nicht deutlich aus dem umliegenden Gewebe hervorheben. Somit hinterlassen sie keine Impression im Kunststoff und das Endothel der Granulationsoberfläche ist im Kunststoffpräparat nicht vom benachbarten Sinusendothel zu unterscheiden.

Schließlich wurde mit Hilfe mesoskopischer Techniken die Dura mater vorsichtig abpräpariert und die Durasinus dorsal eröffnet, so dass man auf die Granulationsoberfläche blicken konnte. Zusätzlich wurden einige Präparate in flüssigem Stickstoff eingefroren und die Granulationen im gefrorenen Zustand aufgebrochen, um auch das Innere der Granulation raster-elektronenmikroskopisch untersuchen zu können.

5.2 ERGEBNISSE

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen haben ergeben, dass sich der Aufbau der Meningen des Huhns prinzipiell mit dem der Säugetiere und des Menschen vergleichen lässt. Dennoch gibt es vor allem in den Abschnitten Arachnoidea und Neurothel signifikante Unterschiede.

Im Gegensatz zu älteren Publikationen (z. B. ARIENS KAPPERS, 1926; FARRAR, 1906; STERZI, 1901) werden heute für die Meningen der Vögel die vom Säuger bekannten Anteile genannt. Die vorliegenden Untersuchungen ergaben, dass neben der Pia mater, Arachnoidea und Dura mater immer auch ein subdural gelegenes Neurothel ausgebildet ist, das bereits BÖHME (1973) lichtmikroskopisch beim Huhn nachweisen konnte.

Bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial fand sich immer eine vollständige und kontinuierliche Pia mater, wie sie auch beim Säugetier von ANDRES (1967) und MORSE und LOW (1972) gefunden wurde. Direkt auf der Basalmembran des Gehirns liegt eine aus Zellfortsätzen und Fasern bestehende Intima piae. Diese ist elektronenmikroskopisch deutlich zu erkennen. Dieser Befund deckt sich mit den Ergebnissen von ANDRES (1966), der bei der Katze ebenfalls eine aus dünnen Zellfortsätzen und Fasern bestehende Intima piae nachweisen konnte. Beim Huhn liegt die Intima piae der Basalmembran des Zentralnervensystems direkt auf, bzw. ist durch einzelne kollagene Fibrillen von dieser separiert. CLARA (1959) sieht sie beim Menschen als Teil der Basalmembran des Zentralnervensystems an. Sie entspricht jedoch der von ANGELOV und VASILEV (1988) und KRISCH et al. (1984) beim Säugetier beschriebene "*inner pial layer*".

Die Bezeichnung des äußeren Liquorraums hat in der Vergangenheit schon zu heftigen Diskussionen geführt. Der in den *Nomina anatomica veterinaria* (1994) festgelegte Begriff "Cavum subarachnoidale" vermittelt den Eindruck, dass der äußere Liquorraum unterhalb der Arachnoidea liegt. Tatsächlich befindet sich der liquorgefüllte Hohlraum jedoch innerhalb der Arachnoidea, wie die vorliegenden Untersuchungsergebnisse und die Befunde anderer Autoren gezeigt haben. Die Bezeichnung "Meninx serosa", die HYRTL (1889) prägte, ist zwar nicht geläufig, jedoch sehr treffend. Eine Umgehung des Problems fand BÖHME (1973), indem er den Terminus "Cavum leptomeningicum" in seiner Veröffentlichung über die Leptomeninx beim Huhn für den äußeren Hohlraum benutzte, da diese Bezeichnung einen Raum innerhalb der Leptomeninx beschreibt, ohne dabei festzulegen, zu welchem Abschnitt der Leptomeninx der Hohlraum zuzuordnen ist. In neueren Publikationen, wie z. B. in denen von ANGELOV (1989), KRISCH et al. (1983) und KRISCH et al. (1984) wird der Begriff *arachnoid space* für den äußeren Liquorraum verwendet. Damit ordnen die oben genannten Autoren diesen Raum eindeutig der Arachnoidea zu. Trotz der allgemein akzeptierten Tatsache, dass der Subarachnoidalraum innerhalb der Arachnoidea liegt, ist die offizielle Bezeichnung "Cavum subarachnoidale", auch wenn der Begriff *arachnoid space* die Lage des Raums exakter wieder gibt.

Das Cavum subarachnoidale des Huhns weist in seiner Ultrastruktur signifikante Unterschiede zu dem Subarachnoidalraum der Säugetiere auf. Anstelle von deutlichen Trabekeln, die mit ihrer zellulären Bedeckung diesen Raum durchziehen, zeigt das untersuchte Gewebe einen zartmaschigen Aufbau, der an ein lymphoretikuläres Gewebe erinnert. Ähnliche Befunde erhob bereits ARIENS KAPPERS (1926) für die Knochenfische. Das zarte leptomeningeale Maschenwerk des äußeren Liquorraumes der Knochenfische ist nicht mit dem trabekulären Subarachnoidalraum der Säugetiere gleichzusetzen, wie er z. B. von FRICKE et al. (1997) beschrieben wird. Andererseits zeigt das Cavum subarachnoidale des Huhns immer eine konstante zelluläre Auskleidung, wie sie auch beim Säugetier anzutreffen ist (ANDRES, 1967a; ANDERSON, 1969; KRISCH et al., 1983; ANGELOV und VASILEV, 1988). Die Bezeichnung dieser zellulären Hohlraumauskleidung variiert bei den oben genannten Autoren und reicht von "Endothel" (SATTLER, 1958) über "Mesothel" (ANDRES, 1967a) bis zu "modifizierte Fibroblasten" (ANGELOV und VASILEV, 1988). Aufgrund des Fehlens einer Basalmembran zwischen den Fibrillen und der sie umgebenden Zelle (wie bereits von ANDRES, 1967a, beschrieben), sowie des auffälligen Reichtums an rauem endoplasmatischem Retikulum in den Zellen des Cavum subarachnoidale werden vermutlich die kollagenen

Fibrillen von den Zellen des Cavum subarachnoideale synthetisiert, die entsprechend als Fibroblasten, bzw. Fibrozyten anzusprechen sind. Die beim Huhn festgestellte geschlossene zelluläre Auskleidung des Hohlraums und die Bedeckung der Fibrillen durch sich überlappende Fibrozytenfortsätze decken sich mit den Befunden von ALLEN und LOW (1975) und ANDRES (1967a) beim Säugetier.

Ebenso wie es FRICKE et al. (1997) für die Ratte beschreiben, gibt es auch beim Huhn zahlreiche kleine marklose und gemischte Nerven zwischen den kollagenen Fibrillen und den sie bedeckenden Zellfortsätzen. FRICKE et al. (1997) halten die marklosen Nerven für Mechanorezeptoren, die den Druck im äußeren Liquorraum kontrollieren.

BÖHME fand 1973 bei seinen lichtmikroskopischen Untersuchungen über die Hühnermeningen heraus, dass die Gefäße, die das Cavum subarachnoideale durchziehen von einer geschlossenen Mesothelzellige bedeckt sind. Auf rasterelektronenmikroskopischer Ebene konnte zusätzlich dargestellt werden, dass die die Gefäße bedeckenden Zellen die gleichen sind, die das Cavum subarachnoideale durchziehen und kollagene Faserbündel umhüllen. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von KRISCH et al. (1984) bei der Ratte, wonach die Blutgefäße, die den pialen und den arachnoidalen Raum durchziehen, von einer Intermediärlamelle bedeckt werden, die aus einer *“outer pial layer”* und einer *“inner arachnoid layer”*, besteht. Diese beiden Schichten weichen im Arachnoidalraum auseinander, wodurch ein verbreiteter, mit kollagenen Fibrillen gefüllter Raum entsteht, der die Gefäße enthält. Auch beim Huhn treten Fibrozytenfortsätze, die das Cavum subarachnoideale durchziehen und auskleiden (*inner arachnoid layer*), auf die Gefäße und die von ihnen eingeschlossenen kollagenen Fibrillen über und verankern sich in der Adventitia der Blutgefäße (vgl. Kapitel 4.3.2, Abb. 9). Die kollagenen Fibrillen liegen somit in dem von KRISCH et al. (1984) beschriebenen erweiterten Interzellularspalt der Leptomeninx zwischen *“outer pial layer”* und *“inner arachnoid layer”*.

Neben den Fibrozyten fanden sich im Cavum subarachnoideale des Huhns auch Makrophagen, Plasmazellen und vereinzelt Lymphozyten (vgl. Abb. 7). Damit decken sich die Befunde beim Huhn teilweise mit denen beim Hund, wo ALLEN und LOW (1975) pleomorphe Makrophagen im Subarachnoidalraum nachgewiesen haben.

Zwischen der retikulären Arachnoidea, die sich an das Cavum subarachnoideale anschließt und der weiter außen liegenden Arachnoidealgrenzschicht, ist beim Huhn an einigen Stellen eine

Basalmembran ausgebildet. Sie ist nicht kontinuierlich, sondern weist Unterbrechungen auf. Während beim Menschen an dieser Stelle eine kontinuierliche Basalmembran ausgebildet sein soll (RASCOL und IZARD, 1976; SCHACHENMEYER und FRIEDE, 1978), wurde bei der Katze und bei der Maus ebenfalls nur eine teilweise ausgebildete Basalmembran gefunden (ANDRES, 1967a; ANGELOV und VASILEV, 1988, NABESHIMA et al., 1975).

Die Arachnoideagrenzschicht stellt den auffälligsten Teil der Leptomeninx des Huhns dar. Sie ist beim Vogel wesentlich dicker ausgebildet (BÖHME, 1973) als es beim Säugetier und Menschen beschrieben wird (ANDRES, 1967a; NABESHIMA et al., 1975; THOMAS, 1966).

In den Interzellularräumen der Arachnoideagrenzschicht sind vereinzelt kleine zarte Fäserchen zu finden, die sich in ihrem Durchmesser (50 nm) deutlich von den kollagenen Fibrillen des Cavum subarachnoideale unterscheiden. Sie konnten mit Hilfe der Silberimprägnationstechnik nach GOMORI als retikuläre Fasern identifiziert werden, wie sie schon BÖHME (1973) in der Arachnoidea des Haushuhns beschrieb. Kollagene Fibrillen, die im Cavum subarachnoideale und in der retikulären Arachnoidea häufig anzutreffen waren, finden sich in der Arachnoideagrenzschicht nicht. Die weiter innen gelegenen Zellen, die an die retikuläre Arachnoidea grenzen, stehen über *gap junctions* und Desmosomen in Verbindung, wohingegen die äußeren Zellen der Arachnoideagrenzschicht durch *tight junctions* miteinander verbunden sind. Diese Befunde decken sich mit den Untersuchungen beim Säugetier von ANGELOV und VASILEV (1988), ORLIN et al. (1991), RASCHER und WOLBURG (1997). Im Gegensatz zu den oben genannten Befunden stehen die Untersuchungsergebnisse von KELKENBERG (1999), die sich auf die Meningen des Huhns und der Ratte im Bereich des Nervus opticus konzentrieren. Ihren Ergebnissen zufolge weist gerade die äußere arachnoideale Zellkulisse zahlreiche extrazelluläre Hohlräume auf. Diese Ergebnisse konnten anhand der vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt werden. Die Immersion mit Lanthannitrat zeigte deutlich, dass die außen gelegenen Zelllagen der Arachnoideagrenzschicht eine Barrierefunktion aufweisen: Das Lanthannitrat drang in diesem Bereich nicht in die Interzellularräume ein, füllte jedoch die Interzellularräume der übrigen Leptomeninxabschnitte.

Die auffälligsten Merkmale der Zellen in der Arachnoideagrenzschicht sind ihr Mitochondrienreichtum und die stromlinienförmig um den Kern angeordneten Intermediärfilamente, die sich im Zytoplasma oberflächenparallel fortsetzen. Der immunhistochemische Nachweis, dass es sich bei den Intermediärfilamenten um den Vimentin-Typ handelt, deckt sich mit den

entsprechenden Befunden in der Arachnoidea des Menschen (KARTENBECK et al., 1984), der Ratte und des Huhns (ACHSTÄTTER et al., 1989). Der zur Gehirnoberfläche parallele Verlauf der Intermediärfilamente (vgl. Kapitel 4.3.2, Abb.16) kann als Stabilisation des Zellverbandes gedeutet werden, vor allem dann, wenn das Gewebe einem erhöhten von innen nach außen gerichteten Druck ausgesetzt ist. Die Zellverbindungen in der Arachnoidealgrenzschicht werden von innen (Desmosomen, *gap junctions*) nach außen (*tight junctions*) immer dichter, so dass gerade dem äußeren Teil der Arachnoidealgrenzschicht eine Schrankenfunktion zugesprochen werden kann. Die auffällige Gemeinsamkeit der äußeren Arachnoidealgrenzschicht mit einem epithelialen Gewebe verstärkt diesen Eindruck. Der epitheliale Charakter der Arachnoidealgrenzschicht wird auch von NABESHIMA et al. (1975), ORLIN et al. (1991) diskutiert, die diesen Abschnitt der Arachnoidea als *arachnoid barrier layer* bezeichnen. Viele Autoren sehen ihn aufgrund seines charakteristischen Aufbaus als wichtigstes Kompartiment der Blut-Liquor-Schranke an (CSERR und BUNDGAARD, 1984; DERMIETZEL, 1975; NABESHIMA et al., 1975; SCHACHENMAYR und FRIEDE, 1978).

In dem auffälligen Interzellularspalt zwischen Arachnoidealgrenzschicht und Neurothel konnten keine *tight junctions* gefunden werden, obgleich sie RASCHER und WOLBURG (1997) beim Huhn beschrieben haben. Die starke Anlagerung von Lanthannitrat in diesem Bereich spricht gegen das Vorhandensein von *tight junctions* in dem Interzellularspalt zwischen Arachnoidealgrenzschicht und Neurothel. Eine Barrierefunktion, wie sie KRISCH et al. (1984) und NABESHIMA et al. (1975) postulieren, kann somit durch die vorgelegten Untersuchungsergebnisse beim Huhn nicht bestätigt werden.

Das Neurothel ist beim Huhn ein zwei- bis vierlagiger Zellverband zwischen Arachnoidealgrenzschicht und Dura mater. Im Bereich des Nervus opticus soll nach KELKENBERG (1999) das Neurothel immer mindestens vierschichtig ausgebildet sein.

In der Literatur wird das Neurothel entweder als eigenständige Hirnhaut bezeichnet (ANDRES, 1967a; RASCOL und IZARD, 1976) oder zur innerster Lage der Dura mater gezählt (HAINES, 1991; NABESHIMA et al., 1975; WAGGENER und BEGGS, 1967). Beim Huhn lässt sich das Neurothel deutlich von der Dura mater abgrenzen, da zwischen den Neurothelzellen keine kollagenen Fibrillen anzutreffen sind. Eine klare Grenze zwischen Neurothel und Dura mater, in Form einer Basalmembran oder eines elektronendichten Interzellularspalts zwischen beiden Schichten, ist jedoch nicht vorhanden. Insgesamt ist die Verbindung

des Neurothels mit der Arachnoideagrenzschicht inniger als mit der Dura mater. Dies zeigt sich besonders im Rahmen der Präparation, da das Neurothel leichter von der Dura mater abreißt als von der Arachnoideagrenzschicht. Auf diese Weise entsteht ein artefizieller subduraler Spalt.

Beim Menschen und der Ratte beschreiben ACHSTÄTTER et al. (1989) Reaktionen des Vimentin-Antikörpers mit dem Perineuralepithel, das als periphere Fortsetzung des meningealen Neurothels angesehen wird. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigten im Bereich des Neurothels keine Reaktion auf den Vimentin-Antikörper. Da Vergleichsuntersuchungen am Perineuralepithel im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt worden sind, kann zu einer Verwandtschaft zwischen meningealem Neurothel und Perineuralepithel aufgrund eines gleichen Typs von Intermediärfilamenten nichts ausgesagt werden. Es wäre wünschenswert, dies durch Folgeuntersuchungen abzuklären.

Die Granulationen des Huhns sind im Vergleich zu denen kleiner Säugetiere relativ große Gebilde. Sie sind Oberflächenvergrößerungen der äußeren Leptomeninx, die sich durch eine Lücke in der Dura mater in einen Blutraum einstülpen und dabei das Gefäßendothel des Blutgefäßes mit vorwölben. Die elektronenoptischen Befunde bestätigen die lichtmikroskopischen Ergebnisse von BÖHME (1973). Im Gegensatz dazu wird in der Arbeit von KELKENBERG (1999) beschrieben, dass beim Huhn im Bereich des Nervus opticus, die Granulationen nicht nur die Dura mater, sondern auch das Neurothel durchbrechen. Nach den eigenen Untersuchungen setzen sich die Granulationen des Huhns aus der gesamten Arachnoidea, dem Cavum subarachnoideale und dem Neurothel zusammen. Somit können die vorgelegten Befunde die Ergebnisse KELKENBERG (1999) nicht stützen. An der Durchbruchstelle durch die Dura mater verdickt sich das Neurothel sogar um ein Vielfaches, nimmt jedoch innerhalb des Durasinus wieder seine ursprüngliche Dicke an, um die freie Granulationsoberfläche zu überziehen (vgl. Kap. 4.5.2, Abb. 34).

Das Innere der Granulationen dominiert das Cavum subarachnoideale mit seinen Fasern und Gefäßen. Es schließen sich nach außen die übrigen Schichten der Arachnoidea und das Neurothel an. Diese Ergebnisse decken sich mit den von THOMAS (1966), der beim Menschen ein dichtes faseriges Maschenwerk im Zentrum der Granulation beschreibt, das nach außen hin abnimmt, während der zelluläre Anteil von innen nach außen zunimmt. Auch die Befunde von LEONHARDT (1972) beim Kaninchen lassen sich mit den Ergebnissen beim Huhn in

Einklang bringen. Er beschreibt eine zentrale Gefäßzone im Inneren der Granulation (Cavum subarachnoidale), die von zwei Zellmänteln umgeben wird (Arachnoidea und Neurothel). Die zahlreichen Nervenfasern im Subarachnoidalraum fanden sich auch im Granulationsinneren wieder. Dabei handelte es sich zum einen um Nerven mit gemischten Faserqualitäten im Bereich der Gefäße, als auch um marklose Fasern, die zwischen den kollagenen Fasern und den bedeckenden Fibrozytenfortsätzen im Cavum subarachnoidale der Granulationen anzutreffen sind. Sie dienen hier wahrscheinlich der Druckregulierung wie auch in den übrigen Abschnitten des äußeren Liquorraums. Auffällig ist bei den marklosen Fasern der hohe Anteil von *small dense core vesicles*, die als morphologisches Merkmal für einen noradrenergen Transmitter angesehen werden.

Obwohl in den Granulationen alle Bauelemente der Arachnoidea und des Neurothels wiederzufinden sind, gibt es signifikante Unterschiede zu den übrigen Abschnitten der Leptomeninx: Der in den übrigen Leptomeninxabschnitten sehr kontrastreiche Interzellularspalt zwischen Arachnoideagrenzschicht und Neurothel ist in den Granulationen nicht mehr deutlich zu verfolgen. Insgesamt bereitet die Differenzierung zwischen den Zellen der Arachnoideagrenzschicht und den Neurothelzellen größere Schwierigkeiten als in den übrigen leptomeningealen Abschnitten. Dieses Problem beschreibt auch KRISCH (1988) bei ihren Untersuchungen an den Granulationen von Affen. Das Neurothel und die ursprünglich dominierende Arachnoideagrenzschicht sind im Bereich der größeren Granulationen zu Gunsten des Cavum subarachnoidale reduziert, so dass der Liquorraum den Hauptteil der größeren Granulationen darstellt. Dieser Befund deckt sich mit den Untersuchungsergebnissen von KELKENBERG (1999) über die Granulationen im Bereich des N. opticus: Auch dort gibt es eine Erweiterung der interzellulären Hohlräume im Granulationszentrum mit Auflockerung der äußeren Arachnoideaschicht.

Einige der untersuchten Meningen zeigten eine starke Infiltration der Granulationen mit Lymphozyten, obgleich die Tiere zum Zeitpunkt der Präparation frei von pathologischen Merkmalen waren. In diesen Fällen waren die Granulationen nur noch mit einer dünnen Endothelzellschicht überzogen, Neurothel und Arachnoidea fehlten und die unter dem Endothel gelegene Basalmembran war größtenteils aufgelöst. Die übrigen Abschnitte der Leptomeninx zeigten keine Veränderungen. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Granulationen als Oberflächenvergrößerungen der Leptomeninx aufgrund ihrer exponierten Lage in einen Blutraum, eine große Angriffsfläche für eine immunzytologische Reaktion bieten. Besonders

häufig traten die Lymphozyteninfiltrationen bei den Tieren auf, bei denen zuvor eine Perfusion bzw. Immersion mit Lanthannitrat durchgeführt worden ist, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Infiltrate kurz vor dem Tod, bzw. während der Agonie ausgebildet wurden, im Sinne einer "Sofortreaktion". Da es bei Hühnern keine solitären Lymphknoten gibt, ist schon seit längerem bekannt, dass andere lymphoretikuläre Formationen (murale Lymphknötchen) diese Aufgabe übernehmen. Diese finden sich in fast allen größeren Lymphgefäßen der verschiedenen Gewebe und stellen eine Reaktion auf den täglichen Kontakt mit Antigenen aus der Umwelt dar (BIGGS, 1957). OAKBERG (1950) fand lymphozytäre Formationen in den großen Eingeweidenerven und PAYNE und BRENEMAN (1952) in den endokrinen Drüsen (Schilddrüse, Nebenniere, Hypophyse und Keimdrüsen) des Haushuhns. Nach OAKBERG (1950) und PAYNE und BRENEMAN (1952) treten lymphozytäre Infiltrate vor allem bei jüngeren Tieren auf, ohne dass diese pathologische Veränderungen an den Organen aufweisen. Die oben genannten Autoren halten diese Infiltrate für Reaktionen auf einen Antigenkontakt mit Lymphomatoseantigen und gehen davon aus, dass die untersuchten Tiere nicht lange genug lebten, um die Krankheit auszubilden. Die in dieser Arbeit beschriebenen Lymphozyteninfiltrationen des leptomeningealen Gewebes können als weiteres Indiz für das sofort reagierende lymphatische Gewebe des Huhns gewertet werden, wobei die Granulationen aufgrund ihrer exponierten Lage dafür besonders prädisponiert zu sein scheinen.

Die Granulationsoberfläche und der Kontakt zwischen Granulation und Durasinus lag im besonderen Interesse der Untersuchungen und wurde raster- und transmissionselektronenmikroskopisch untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass im Regelfall die Granulationsoberfläche das Endothel des Durasinus vorwölbt, aber nicht durchbricht, wie es lichtmikroskopisch schon von BÖHME (1973) beim Huhn, transmissionselektronenmikroskopisch von KRISCH (1988) und rasterelektronenmikroskopisch von TAKAHASHI et al. (1993) beim Affen beschrieben worden ist. Es wurde jedoch auch der Fall beobachtet, dass eine Granulation das gesamte Lumen des Sinus verlegt und bis in die äußere Duralamelle hineinwächst (vgl. Kap.4.5.2, Abb. 35). Dabei wurden die im Inneren der Granulation mitgeführten Nerven und Gefäße mit in die äußere Dura mater hineingeschoben. Im Vergleich dazu beschreibt TURNER (1958) beim Menschen Granulationen, die mit ihrer Oberfläche an die gegenüberliegende Sinuswand heranragen und dort mit kollagenen Fasern an die Dura mater angeheftet sind. Eine fibröse Kapsel an der Granulationsoberfläche (YAMASHIMA, 1988; MIRANDANETO et al., 1994) oder ein "*endothelial cell cap*" aus proliferierten Endothelzellen

(THOMAS, 1966; TURNER, 1958 und 1960; UPTON und WELLER, 1985) wie sie beim Menschen beschrieben werden, fanden sich beim Huhn jedoch nicht. Das rasterelektronenmikroskopische Bild zeigte starke Auffaltungen des Sinusendothels an der Granulationsoberfläche. Diese sind in den übrigen Bereichen des Durasinusendothels nicht so stark ausgeprägt und daher Zeichen einer Oberflächenvergrößerung des Endothels an der Granulationsoberfläche. Vergleichbare Ergebnisse fanden LEVINE et al. (1982) und TRIPATHI (1974) an den Granulationsoberflächen bei Primaten in Form von konvexen und konkaven Strukturen, die innerhalb derselben Spezies - je nach Druckgradient - erheblich variieren können, und THOMPSON (1984) in Form von endothelausgekleideten Krypten. Die tieferen Falten im Sinusendothel konnten auch im transmissionselektronenmikroskopischen Bild beobachtet werden. Die rasterelektronenmikroskopisch untersuchten Granulationsoberflächen zeigten als auffälligstes Merkmal große Endothelöffnungen, deren Rand leicht erhaben ist und die bei stärkerer Vergrößerung einen Blick in das Granulationsinnere erlauben. Korrespondierend dazu beschrieb TRIPATHI (1974) "Endothelporen" an der Granulationsoberfläche bei Primaten, deren rasterelektronenmikroskopisches Bild eine starke Ähnlichkeit zu den in dieser Arbeit erhobenen Befunden aufweist (vgl. Abb. 43). Per definitionem ist eine Pore ein Loch im Endothel, dessen Durchmesser auf 100 nm begrenzt ist. Dies trifft weder auf die Endothelöffnungen in der vorliegenden Arbeit, noch auf die von TRIPATHI (1974) beschriebenen Öffnungen zu. Aus diesem Grund wird der von TRIPATHI (1974) verwendete Begriff "Endothelpore" nicht für die eigenen Befunde übernommen. Anstelle dessen wird hier die Bezeichnung "Endothelöffnung" verwendet, obwohl die Befunde der vorliegenden Arbeit mit denen TRIPATHI's große Übereinstimmungen aufweisen. Die Endothelöffnungen des Huhns könnten einen ähnlichen Zweck haben wie die von LEVINE et al. (1982) und TRIPATHI (1974) beim Primaten beschriebenen. Demnach findet der Liquortransport über ein Ventilsystem statt, bei dem sich die im Endothel befindlichen Hohlräume, – je nach Druckgradient – sowohl zur Blut- als auch zur Liquorseite hin öffnen können. Diese intrazytoplasmatischen Vakuolen fanden sich auch in den die Granulationsoberflächen bedeckenden Endothelien beim Huhn.

Neben den Endothelöffnungen fielen vor allem die stark erweiterten Interzellularspalten im Endothel der Granulationsoberfläche auf. Die transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten neben den oben beschriebenen tiefen Endothelfalten eine weitere Besonderheit: Im Endothel befinden sich zahlreiche kleine intrazytoplasmatische, flüssigkeitsgefüllte Vesikel, die vermutlich mittels Exozytose in das Sinuslumen geschleust werden. Die

pinozytotische Aktivität ist in diesem Bereich größer als in den übrigen Abschnitten des Endothels. Dieser Befund könnte im Zusammenhang mit der Liquorresorption eine wichtige Rolle spielen, da er in Einklang mit dem transzellulären Transportmechanismus für den Liquor cerebrospinalis in ein Venensystem steht, was zahlreiche Autoren auch schon für die Säugetiere postuliert haben (ALKSNE, 1962; ALKSNE und LOVINGS, 1972; LEVINE et al., 1982; KRISCH, 1988; TRIPATHI, 1974 und YAMASHIMA, 1988). Auch KELKENBERG (1999) beobachtete intrazytoplasmatische Vesikel und Vakuolen im Sinusendothel der Granulationsoberfläche beim Huhn nach Perfusion mit Berliner Blau und beschrieb Endo- und Exozytosen im Sinusendothel. Allerdings beziehen sich ihre Befunde auf pathophysiologische Verhältnisse, da sie ihre Untersuchungen an Hühnern durchführte, denen vorher Berliner Blau unter erhöhtem Druck in den Subarachnoidalraum injiziert worden war. Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Tiere wurden unter einem Druck von 80 bis 100 mm Hg mit Glutaraldehyd perfundiert, der noch unter dem physiologischen Blutdruck liegt, womit Artefakte vermieden werden sollten. Trotzdem fanden sich sowohl erweiterte Endothelspalten an der Granulationsoberfläche als auch zahlreiche flüssigkeitsgefüllte mikropinozytotische Vesikel mit Exozytosen im bedeckenden Sinusendothel.

Aufgrund der starken Endotheleinsenkungen an der Granulationsoberfläche und den raster-elektronenmikroskopisch belegten erweiterten Interzellularspalten in diesem Bereich, kann nicht ausgeschlossen werden, dass neben dem transzellulären aktiven Transport ein parazellulärer passiver Resorptionsweg des Liquor cerebrospinalis existiert. Insgesamt spricht das regelmäßige Vorkommen und der ultrastrukturelle Aufbau der Granulationen beim Huhn für eine Liquordrainage über den Blutweg, wie es auch BERENS von RAUTENFELD et al. (1993) und KELKENBERG (1999) diskutieren, im Gegensatz zu einem lymphvaskulären Transport, den BOWSHER (1957) für die Katze und BRADBURY et al. (1980) für das Kaninchen annehmen.