

Aus dem  
Universitätsklinikum Benjamin Franklin  
der Freien Universität Berlin  
Abteilung für Neuropathologie  
Kommissarischer Leiter  
Prof. Dr. W. Hinckelbein

---

Drainage von Erythrozyten aus dem Subarachnoidalraum in  
Lymphknoten – Eine tierexperimentelle Untersuchung zum  
Schädelhirntrauma

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung  
der medizinischen Doktorwürde  
des Fachbereichs Humanmedizin  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Rüdiger Wolf  
aus Koblenz

Referent: Prof. Dr. Gisela Stoltenburg-Didinger

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. M. Rothschild

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin  
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 7. September 2001

*Meinem Sohn Leon gewidmet.*

---

# INHALTSVERZEICHNIS

---

INHALTSVERZEICHNIS .....	4
1. EINLEITUNG .....	9
2. THEORETISCHER HINTERGRUND.....	11
2.1. DIE LIQUORDRAINAGE IN DAS LYMPHATISCHE SYSTEM	
2.1.1. Anatomie.....	11
2.1.1.1. Das Hirnparenchym und seine Drainagewege .....	11
2.1.1.2. Der Subarachnoidalraum und seine Drainagewege .....	13
2.1.1.3. Der Bulbus olfactorius und das lymphatische Gewebe der Nasenschleimhaut.....	17
2.1.1.4. Der spinale Subarachnoidalraum .....	18
2.1.2. Funktion .....	21
2.1.2.1. Regulation der Extrazellulärflüssigkeit des ZNS .....	21
2.1.2.2. Die Rolle der Liquordrainage bei der immunologischen Integration des ZNS .....	22
2.2. DER LYMPHKNOTEN	
2.2.1. Anatomie.....	24
2.2.1.1. Struktureller Aufbau und Zytoarchitektur .....	24
2.2.1.2. Lokalisation und Nomenklatur .....	26
2.2.2. Funktion .....	29
2.2.2.1. Das Lymphknotenparenchym .....	29
2.2.2.2. Die Gefäße des Lymphknotens .....	30
2.2.2.3. Zirkulation der Lymphflüssigkeit im Lymphknoten.....	31
2.2.3. Heterogenität der Makrophagen innerhalb des Lymphknotens .....	32
2.2.4. Der Blutlymphknoten.....	34
2.2.4.1. Charakterisierung des Blutlymphknotens .....	34
2.2.4.2. Unterschiede zwischen Lymphknoten und Blutlymphknoten.....	35
2.2.5. Darstellung der Kompartimente des Lymphknotens mit Antikörpern .....	37
2.2.5.1. Desmoplakin .....	37

2.2.5.2. Aktin ( $\alpha$ -smooth muscle actin) .....	38
2.2.6. Phagozytose und Degradation von Erythrozyten im Lymphknoten.....	39
2.2.6.1. Aufnahme und Abbau von Erythrozyten in Makrophagen .....	39
2.2.6.2. Darstellung der Makrophagenlysosomen mit ED 1 .....	41
<b>2.3. DAS SCHÄDELHIRNTRAUMA</b>	
2.3.1. Die Problematik des Schädelhirntraumas in der Klinik .....	42
2.3.2. Das experimentelle Schädelhirntrauma .....	42
<b>3. FRAGESTELLUNG.....</b>	<b>44</b>
<b>4. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>46</b>
<b>4.1. DAS TRAUMAMODELL</b>	
4.1.1. Die Versuchstiere.....	46
4.1.2. Die Versuchsanordnung .....	46
<b>4.2. HERSTELLUNG VON HISTOLOGISCHEN SCHNITTEN</b>	
4.2.1. Präparation und Einbettung .....	48
4.2.2. Herstellung von Paraffinschnitten .....	49
<b>4.3. FÄRBUNGEN</b>	
4.3.1. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin nach <i>Mayer</i> .....	50
4.3.2. Trichromfärbung nach <i>Goldner</i> .....	50
4.3.3. Berlinerblau und <i>Turnbulls</i> Blau .....	51
4.3.4. Silberimpregnation nach <i>Gomori</i> .....	51
<b>4.4. IMMUNHISTOCHEMIE</b>	
4.4.1. Die ABC-Methode .....	52
4.4.1.1. Durchführung der ABC-Methode .....	54
4.4.1.2. Materialien und Stammlösungen der ABC-Methode .....	55
4.4.2. Die Alkalische Phosphatase anti-alkalische Phosphatase (APAAP) Methode .....	56
4.4.2.1. Durchführung der APAAP-Methode.....	57
4.4.2.2. Materialien und Stammlösungen der APAAP-Methode.....	58
<b>4.5. ELEKTRONENMIKROSKOPIE</b>	
4.5.1. Vorarbeiten für die Transmissionselektronenmikroskopie.....	59
4.5.1.1. Durchführung der Einbettung von histologischem Material .....	59
4.5.2. Technische Vorbereitung der Herstellung von Schnitten.....	59
4.5.3. Herstellung von Semidünnschnitten .....	60

---

4.5.4. Herstellung von Ultradünnschnitten .....	60
<b>4.6. AUSWERTUNG UND DOKUMENTATION</b>	
4.6.1. Elektronenmikroskopie .....	61
4.6.2. Lichtmikroskopie .....	61
4.6.3. Fotografie.....	61
<b>5. ERGEBNISSE .....</b>	<b>62</b>
<b>5.1. MAKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG</b>	
5.1.1. Das traumatisierte Gehirn.....	62
5.1.1. Die Lymphknoten .....	63
<b>5.2. MIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG</b>	
5.2.1. Das traumatisierte Gehirn.....	64
5.2.2. Lymphknoten der Kontrolltiere .....	66
5.2.3. Lymphknoten der Sham-operierten Tiere .....	66
5.2.4. Die einzelnen Lymphknotenstationen nach Controlled Cortical Impact Injury .....	67
5.2.4.1. Die tiefen cervikalen Lymphknoten.....	67
5.2.4.2. Die submandibulären Lymphknoten .....	72
5.2.4.3. Die lumbalen paraaortalen Lymphknoten .....	73
5.2.4.4. Die inguinalen und poplitealen Lymphknoten .....	74
<b>5.3. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE</b>	
5.3.1. Zeitintervalle der Erythrozytendrainage.....	76
5.3.2. Vergleich der Cerestat®-Therapiegruppe mit der Plazebogruppe .....	78
5.3.3. Schematische Darstellung der beobachteten Erythrozytendrainage .....	79
<b>6. DISKUSSION.....</b>	<b>80</b>
<b>6.1. DIE LIQUORDRAINAGE IN DIE TIEFEN CERVIKALEN- UND LUMBALEN PARAAORTALEN LYMPHKNOTEN</b>	
6.1.1. Das zeitliche Auftreten der Erythrozytendrainage in Beziehung zur Lokalisation .....	81
6.1.2. Zusammenhang zwischen Hirndruck und Erythrozytendrainage in das extrakranielle Lymphsystem .....	85
6.1.3. Die Verwendung von Erythrozyten als Marker der Liquordrainage.....	87
6.1.4. Zuverlässigkeit der Zuordnung von Drainagegebieten .....	90
<b>6.2. ERYTHROZYTEN-MAKROPHAGEN INTERAKTIONEN</b>	
6.2.1. Der zeitliche Ablauf der Erythrozytenbindung .....	92

---

6.2.2. Der Blutlymphknoten - Modell für die Erythrozyten-Makrophagen-Interaktionen innerhalb des lymphatischen Systems .....	93
<b>6.3. METHODENDISKUSSION</b>	
6.3.1. Ist das "Controlled Cortical Impact Injury" eine geeignete Methode zur Simulation eines subarachnoidalen Hämatomes .....	95
6.3.2. Operationstechnik .....	95
6.3.3. Die Immunhistochemie im Lymphknoten.....	96
6.3.4. Auswahl der Überlebenszeiten .....	97
<b>6.4. AUSBLICK</b>	
<b>7. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>99</b>
<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>101</b>

---

# ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung	I	Jod
Abschn.	Abschnitt	ICAM-1	intercellular adhesion molecule 1
ABC	Avidin-Biotin-Komplex	ICP	intracerebral pressure
al.	aliter	Ig	Immunglobulin
APAAP	Alkalische Phosphatase- Antialkalische Phosphatase	KV	Kilovolt
Aqua dest.	Aqua destillata	LFA-1	leukocyte function-associated antigen 1
BHS	Blut-Hirn-Schranke	M	molar
°C	Grad Celsius	µl	Mikroliter
CCII	controlled cortical impact injury	µm	Mikrometer
CD	cluster of differentiation	mg	Milligramm
cm	Zentimeter	min	Minute
cm/H <sub>2</sub> O	Zentimeter Wassersäule	mind.	mindestens
cmm	Kubikmillimeter	ml	Milliliter
CSF	cerebrospinal fluid	ml/h	Milliliter pro Stunde
CT	Computertomographie	mm	Millimeter
∅	Durchmesser	mM	millimolar
DAB	3,3'-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid	mm/Hg	Millimeter Quecksilbersäule
d	dies	m/s	Meter pro Sekunde
EDTA	ethylene diamine tetraacetic acid	N	normale
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay	NALT	nasal-associated lymphoid tissue
Fab	fragment antigen binding	NH <sub>2</sub>	Aminogruppe
FACS	fluorescence activated cell sorter	nm	Nanometer
Fc	fragment cristaline	NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
Färb.	Färbung	N <sub>2</sub> O	Stickoxid
Fe <sup>3+</sup>	dreiwertiges Eisen	O <sub>2</sub>	Sauerstoff
Fig.	Figur	PBS	phosphate-buffered saline
g	Gramm	pH	pondus hydrogenii
GlyCAM-1	glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1	RISA	radioisotopenhaltiges Serumalbumin
h	hora	RT	Raumtemperatur
HCl	Salzsäure	SHT	Schädelhirntrauma
HE	Hämatoxylin-Eosin	Tab.	Tabelle
HEV	high endothelial venules	TBS	Tris-buffered saline
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid	TCL	tiefe cervikale Lymphknoten
HSA	Human-Serumalbumin	WER	Waldeyer ring equivalent
		z.B.	zum Beispiel
		ZNS	zentrales Nervensystem