

## 2. KAPITEL

# THEORETISCHER HINTERGRUND

---

### 2.1. DIE LIQUORDRAINAGE IN DAS LYMPHATISCHE SYSTEM

#### 2.1.1. Anatomie

##### 2.1.1.1. Das Hirnparenchym und seine Drainagewege

Nicht nur auf Grund von Erfahrungen aus Sektionen, sondern auch durch die Erfindung der Computer- und Kernspintomographie, wurde allgemein bekannt, daß zum Beispiel im Falle eines Schädelhirntraumas bevorzugt in der weißen Substanz des Gehirnes Ödemflüssigkeit gespeichert wird. Tierexperimentelle Tracerstudien (CSERR ET AL., 1974; ZHANG ET AL., 1992) zeigten, daß die Ödemflüssigkeit diffus zwischen den Nervenfasern liegt, bei Zurückgehen des Ödemes in Richtung Ventrikel drainiert wird und dort in den Liquor gelangt.

Im Gegensatz dazu werden in die graue Substanz von Kaninchen und Ratten injizierte Tracer vorwiegend entlang der perivaskulären Räume der Hirngefäße drainiert. Der perivaskuläre Raum, auch Virchow-Robinscher Raum genannt, begleitet die Hirngefäße durch den Subarachnoidalraum hindurch und wird auf dieser Strecke durch eine Arachnoidalzellschicht räumlich vom Subarachnoidalraum getrennt. Sowohl die Zellen der Pia, als auch Zellen der die Gefäße umgebenden Arachnoidalzellschicht sind durch *gap junctions* und *Desmosomen* miteinander verbunden (ALCOLADO ET AL., 1988). Es gibt keine Anhaltspunkte dafür, daß diese Zellen auch *tight junctions* besitzen. Daraus resultiert, daß entlang der perivaskulären

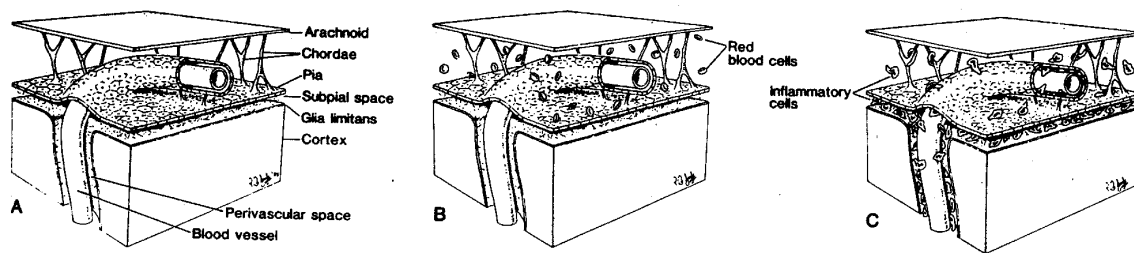


Fig. 1: Schematische Darstellung der Lagebeziehung zwischen subarachnoidalen- und perivaskulären Räumen beim Menschen. A. Normales Gehirn. B. Gehirn eines an einem subarachnoidalen Hämatom verstorbenen Patienten. C. Gehirn eines an einer Meningitis verstorbenen Patienten. Die Pia mater stellt für Erythrozyten eine Barriere dar, für Granulozyten nicht (HUTCHINGS ET AL., 1986).

Räume drainierte interstitielle Flüssigkeit frei in die Cerebrospinalflüssigkeit des Subarachnoidalraumes gelangen kann. In der Untersuchung von KIDA (1993) konnte nach intracisternaler Applikation von Tinte deren Ausbreitung entlang der großen Hirngefäße, vermutlich innerhalb der perivaskulären Räume, beobachtet werden. Tinte scheint also die meningeale Umhüllung der Gefäße im Subarachnoidalraum passieren zu. HUTCHINGS ET AL. (1986) konnte bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigen, daß die Pia mater nach einer stattgehabten Subarachnoidalblutung eine wirksame Barriere gegenüber im Subarachnoidalraum anfallenden Erythrozyten darstellt (Fig. 1). Umgekehrt können Erythrozyten wahrscheinlich auch nicht aus den perivaskulären Räumen in den Subarachnoidalraum gelangen. Ob der Virchow-Robinsche Raum an jenen Stellen, wo die Gefäße das ZNS verlassen, Kontinuität mit einem ähnlichen perivaskulären Kompartiment oder Lymphgefäßen außerhalb des ZNS besitzt, wird weiter untersucht (DJUANDE ET AL., 1998) und diskutiert. Anhaltspunkte für eine Verbindung der perivaskulären Räume innerhalb und außerhalb des ZNS lieferte die Arbeitsgruppe um Michael Földi. Diese injizierten Kohlenpartikel in den Kortex von Ratten (WANG & CASLEY-SMITH, 1989), Kaninchen und Katzen (CASLEY-SMITH ET AL., 1976) und fanden diese in den Adventitiae von Arteria cerebellaris, basilaris und vertebralis, sowohl innerhalb als auch außerhalb des Schädels, wieder. Die Drainage entlang der perivaskulären Räume würde das ZNS auf direktestem Wege verlassen, so daß dieses Modell eine sehr schnelle Drainage, wie sie in verschiedenen Untersuchungen (OEHMICHEN ET AL., 1982, YAMAZUMI, 1989, KIDA ET AL., 1993, BRINKER ET AL., 1997), unter anderem auch in der vorliegenden Arbeit, vorgefunden wurde, unterstützt. Jedoch gelten die genaueren anatomischen Verhältnisse dieser Strukturen nach wie vor als unklar.

### 2.1.1.2. Der Subarachnoidalraum und seine Drainagewege

Dieser Raum erstreckt sich zwischen Arachnoidea und Pia mater und ist mit Liquor angefüllt. Sowohl Arterien und Venen, die das Gehirn versorgen, als auch Kollagentrabekel kreuzen den Subarachnoidalraum und sind an dieser Stelle von meist nur einer Schicht Arachnoidalzellen bedeckt.

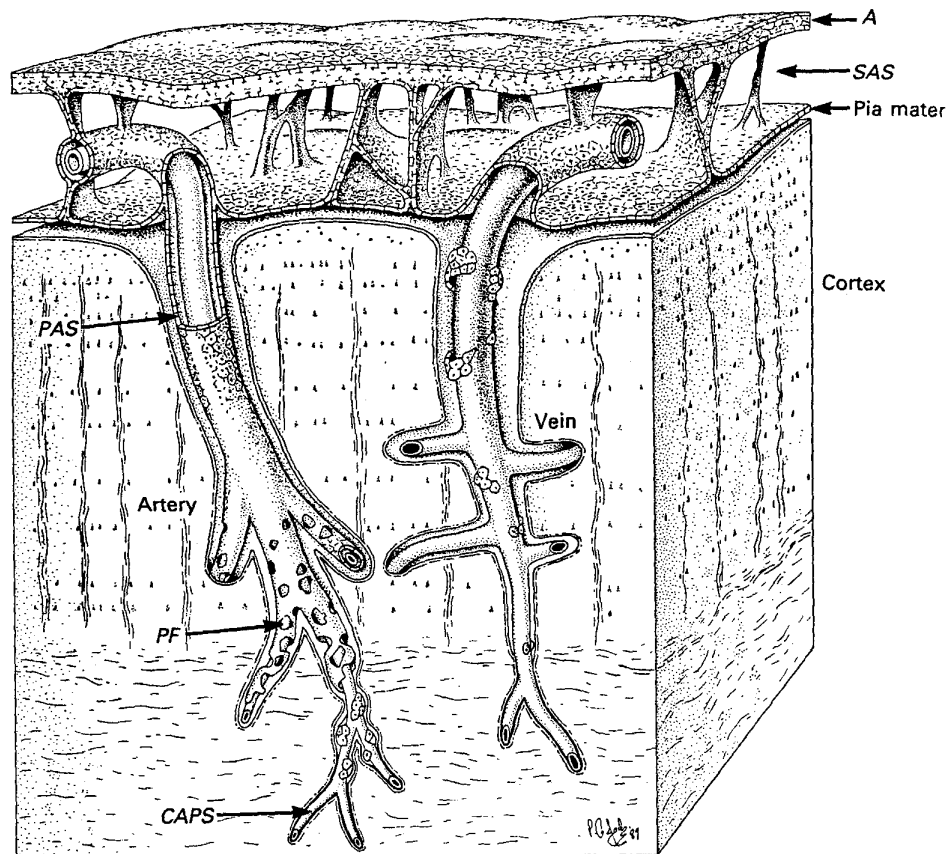


Fig. 2: Schema des Subarachnoidalraumes und seine Beziehung zu den intrazerebralen Blutgefäßen. Der Subarachnoidalraum (SAS) trennt die Arachnoidea (A) von der Pia mater, die den zerebralen Kortex bedeckt. Links ist eine in den Kortex eintretende Arterie dargestellt, die durch eine sich von der Pia mater ableitenden Zellschicht umhüllt wird. Diese Zellschicht wurde an einer Stelle entfernt, um deutlich die Kontinuität des perivaskulären Raumes (PAS) der extra- und intrazerebralen Arterien darstellen zu können. In tieferen Hirnschichten ist die Zellscheide zunehmend gefenstert (PF) und im Bereich der Kapillaren (CAPS) erscheint der perivaskuläre Raum obliteriert. Die rechts gezeigten Hirnvenen sind nur mit einzelnen Zellschollen umgeben, der perivaskuläre Raum fließt frei in den subpialen Raum. (ZHANG ET AL., 1989).

Die Pia mater steht also durch diese Umschlagfalte, bestehend aus einer Arachnoidalzellschicht, in direkter Verbindung mit der Arachnoidea. Zwischen den Gefäßen und der Arachnoidalzellschicht befindet sich der perivaskuläre Raum, auch Virchow-Robinscher Raum (ZHANG ET AL., 1990) genannt. Dieses Kompartiment setzt sich im Bereich der Arterien bis in die tieferen Hirnschichten fort. Die umhüllende Zellschicht, deren Zellen

sich von den Zellen der Pia ableiten, ist dort, wo die Arterien keine glatten Muskelzellen mehr enthalten, zunehmend gefenstert. Die das Hirnparenchym verlassenden Venen sind im gesamten intrazerebralen Verlauf nur noch von einzelnen Zellansammlungen – die sich ebenfalls von Zellen der Pia ableiten – umgeben. Somit hat der perivaskuläre Raum der Venen, der nur im Bereich des Subarachnoidalraumes abgrenzbar ist, eine direkte Verbindung mit dem subpialen Raum (Fig. 2, ZHANG ET AL., 1990). An einigen Stellen weitet sich der Abstand zwischen Pia und Arachnoidea, so daß sogenannte subarachnoidale Zisternen entstehen. Experimentelle Studien (ZHANG ET AL 1992) sprechen dafür, daß die Anordnung der Trabekel, die durch den Subarachnoidalraum ziehen, diesen in verschiedene Kompartimente aufteilen und somit einen gerichteten Fluß des Liquors erzeugen. Daß sich der größte Anteil des Liquorabflusses aus dem Subarachnoidalraum in den venösen Kreislauf an den arachnoidalen Granulationen abspielt, ist zumindest beim Menschen unumstritten (DAVSON ET AL., 1987). Die meisten Granulationen sind im Bereich der Fissura longitudinalis lokalisiert und wölben sich pilzartig durch die Dura mater in den Sinus sagittalis. Andere Untersuchungen haben gezeigt, daß sich auch an anderen Stellen Granulationen befinden könnten. So werden in der Arbeit von LÖWHAGEN ET AL. (1994) Granulationen, die sich durch die Lamina cribrosa hindurch bis in die Nasenschleimhaut erstrecken sollen, diskutiert. Granulationen im Bereich des Spinalkanales wurden von KIDO ET AL. (1976) beschrieben. Die arachnoidalen Granulationen stellen Ausdehnungen des Subarachnoidalraumes dar, in denen sich im apikalen Teil keine Durazellschicht mehr zwischen Arachnoidalzellen und Epithelzellen des venösen Sinus befindet. An dieser Stelle beträgt die Dicke der Trennwand zwischen Subarachnoidalraum und Sinus nur noch 150 µm, so daß eine Liquordrainage durch die Arachnoidal- und Sinusepithelzellschicht möglich wird (Fig. 3). Wie genau der Weg des Liquors durch diese dünne Zellschicht

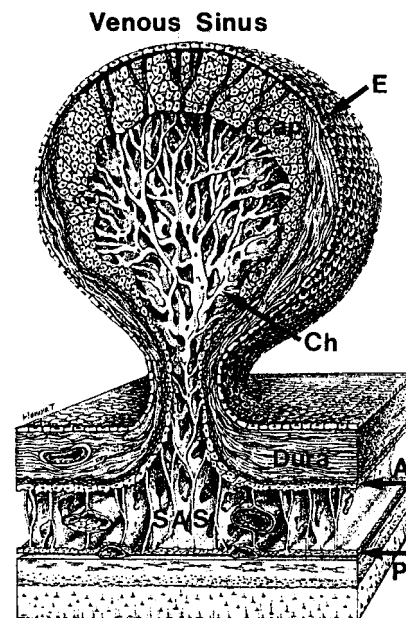


Fig. 3: Schematische Darstellung einer arachnoidalen Granulation des Menschen. Kanäle (Ch) die mit dem Subarachnoidalraum in Verbindung stehen. Breite Kanäle führen durch die aus Arachnoidalzellen bestehende Kappe (Cap) bis unmittelbar an das Endothelium (E) des venösen Sinus. Arachnoidea (A), Pia mater (P), Subarachnoidalraum (SAS). (KIDA & WELLER, 1992)

verläuft, liegt trotz verschiedener Untersuchungen an Tieren zu diesem Thema noch im Dunkeln (Übersicht in KIDA & WELLER, 1993). Im Sinusendothelium von Affen wurden 2-10  $\mu\text{m}$  durchmessende Vakuolen beobachtet, die neben der Drainage von Flüssigkeit auch den Übertritt von anderen Stoffen erklären könnten (TRIPATHI & TRIPATHI, 1974). Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen ist die Erkenntnis wesentlich, daß noch niemand beobachten konnte, wie oder ob überhaupt Erythrozyten im Falle eines subarachnoidalen Hämatomes arachnoidale Granulationen verlassen. Vielmehr wurde gesehen, daß innerhalb des aus kleinen Kanälen bestehenden Netzwerkes in den arachnoidalen Granulationen Erythrozyten von Arachnoidalzellen phagozytiert werden (ALKSNE & LOVINGS, 1972). Die Auseinandersetzung mit der Anatomie der arachnoidalen Granulationen ist für die Frage der Liquordrainage beim Menschen relevant. Für die Ratte spielt sie eher eine untergeordnete Rolle, da das Vorkommen von arachnoidalen Granulationen gering ist (KIDA ET AL., 1993).

Neben den arachnoidalen Granulationen werden noch weitere Modelle in der Literatur diskutiert:

- Von der Arbeitsgruppe um W. Arnold wird die Ansicht vertreten, die Liquordrainage passiere zwischen Axon und Perineurium innerhalb des sogenannten Perineuralraum, der eine Verlängerung des Subarachnoidalraum darstelle, die Lamina cribrosa (JACKSON ET AL., 1979). Zwei Varianten, wie der Liquor vom Perineuralraum in die lymphatischen Gefäße gelangen könnte, werden in dieser Arbeit diskutiert. Zum einen das *open-cuff* Modell, bei dem sich jegliche Flüssigkeit innerhalb des Perineuralraumes in freier Kommunikation mit dem Interstitium der nasalen Mukosa befindet. Zum anderen das *closed-cuff* Modell, das eine Durchwanderung des perineuralen Epithels durch den Liquor oder die direkte Integration von Lymphepithel in der Zellschicht des perineuralen Epithels vorschlägt. Daraus könnte der Schluß gezogen werden, daß an jedem Punkt, an dem ein Nerv das ZNS verläßt, dieser Raum einen möglichen Drainageweg aus dem ZNS in die peripheren Lymphgefäße darstellt.
- Ein zweites Modell schildern LÖWHAGEN ET AL. (1994), die bei der Untersuchung der Lamina cribrosa an Sektionsgut (z.B. nach Subarachnoidalblutung) Erythrozyten innerhalb von arachnoidalen Granulationen, die sich durch die Lamina cribrosa bis in die

Nasenschleimhaut vorwölben, fanden. Leider hat bis heute noch niemand Erythrozyten beim Verlassen von arachnoidalen Granulationen beobachten können (ALKSNE & LOVINGS, 1972). Daß Liquor mittels der arachnoidalen Granulationen den Subarachnoidalraum verlassen kann, ist bekannt (DAVSON ET AL., 1987). Also ein weiteres Indiz, daß für die Klärung der Liquordrainage beim Menschen einen großen Stellenwert hat. Jedoch bei der Ratte scheint dieser Weg wegen des geringen Vorkommens von arachnoidalen Granulationen unwahrscheinlich, wenngleich die wenigen bei der Ratte vorkommenden arachnoidalen Granulationen im wesentlichen im Bereich des Bulbus olfactorius lokalisiert sind (KIDA ET AL., 1993).

- In der Untersuchung von KIDA ET AL. (1993) werden arachnoidale Kanäle erwähnt, die den Subarachnoidalraum im Bereich des Bulbus olfactorius direkt mit den Lymphgefäßen der Nasenschleimhaut verbinden sollen. Diese ließen sich am deutlichsten in einem mit Zedernholzöl gereinigten histologischen Schnitt in der Ebene der Lamina cribrosa eines aus der Versuchsreihe stammenden Rattenschädels mit Hilfe eines stereoskopischen Mikroskop (40fach) darstellen. Durch die stereoskopische Darstellung konnte die im Bereich der Lamina beginnende Ausbreitung der mit schwarzer Tinte angefüllten arachnoidalen Kanälchen dreidimensional nachvollzogen werden (siehe Fig.3). Die genauen anatomischen Verhältnisse dieser Verbindungskanäle sind jedoch noch unbekannt. Wie in mehreren Publikationen zu lesen ist (WELLER ET AL., 1992, KIDA ET AL., 1993, WELLER ET AL., 1996) wurden von der gleichen Arbeitsgruppe die arachnoidalen Verbindungskanäle im Bereich der Lamina cribrosa elektronenmikroskopisch aufgearbeitet (PANTAZIS & WELLER, *unveröffentlicht*). LI ET AL. (1996) machten bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung fetaler Hirnhäute bemerkenswerte Entdeckungen. Sie fanden 0,33 bis 2,98 µm durchmessende Öffnungen zwischen den mesothelialen Zellen, die teilweise in der Anordnung den knöchernen Durchtrittskanälen der Lamina cribrosa gleichen. Ein möglicher Zusammenhang dieser Öffnungen mit den anatomisch noch nicht eindeutig geklärten Verbindungen zwischen Subarachnoidalraum und außerhalb des ZNS gelegenen Lymphgefäßen wurden diskutiert (LI ET AL., 1996).

### 2.1.1.3. Der Bulbus olfactorius und das lymphatische Gewebe der Nasenschleimhaut

Der Verlauf des ersten Hirnnerves, der im Bereich der Lamina cribrosa das ZNS verläßt, spielt in der Diskussion um die Liquordrainage aus dem Subarachnoidalraum in das lymphatische System eine zentrale Rolle (KIDA ET AL., 1993, JACKSON ET AL., 1979). RASMUSSEN (1943) und auch DAVSON (1967) schildern in ihren Veröffentlichungen, daß bestimmte Hirnnerven, nämlich der Nervus acusticus, -opticus und -olfactorius, von Ausstülpungen des Subarachnoidalraumes begleitet werden. Nach histologischen Untersuchungen im Bereich der Lamina cribrosa kam YOFFREY (1958) zu der Annahme, daß die Bündel des Nervus olfactorius, die durch die Öffnungen der Lamina cribrosa ziehen, ebenfalls von Ausstülpungen des Subarachnoidalraumes umgeben sind und somit einen Teil des Drainageweges durch die Lamina bedingen könnten. Der Bulbus olfactorius liegt unmittelbar der Lamina cribrosa auf,

so daß der Weg der Fila olfactoria durch die Lamina sehr kurz ist. Die sowohl licht-, als auch elektronenmikroskopischen Untersuchungen im Bereich der Lamina cribrosa von ERLICH (1986) bestätigen die Erkenntnisse von YOFFREY (1958). Laut ERLICH (1986) geht die Durazellschicht extrakranial in das Periost über und die Arachnoidea verschmilzt mit dem Perineurium. Dies würde bedeuten, daß der Subarachnoidalraum direkt in den Perineuralraum übergeht. KIDA ET AL. (1993) beschreiben dagegen sogenannte *cul de sac*, an denen die Ausstülpungen des Subarachnoidal-

raumes ohne Kontinuität mit den Perineuralräumen enden. Wie oben bereits angedeutet, beobachtete die Arbeitsgruppe von WELLER (1992) bei elektronenmikroskopischer Untersuchung der beschriebenen Region, daß Tinte aus dem Subarachnoidalraum in kleine Kanäle der Arachnoidea unterhalb des Bulbus olfactorius gelangt. Diese Kanäle finden

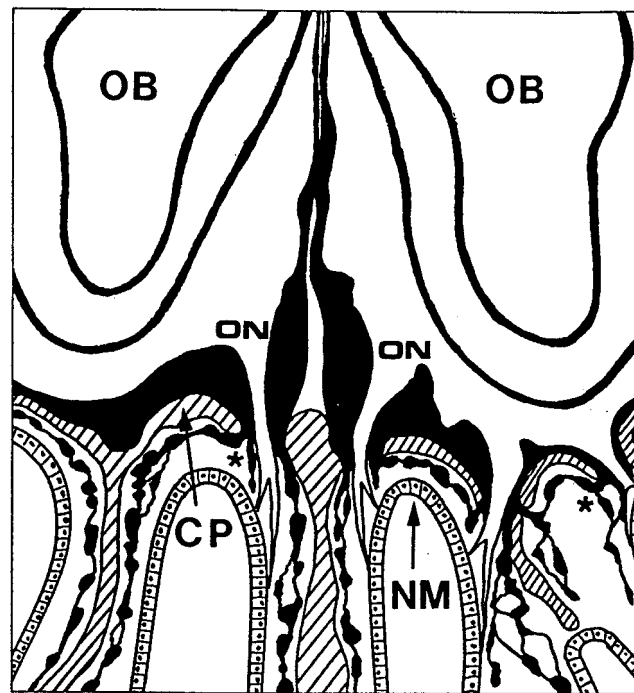


Fig. 4: Diagramm eines Frontalschnittes der Ratte im Bereich der Lamina cribrosa nach Injektion von Tinte in den Subarachnoidalraum. Diese umgibt die Bulbi olfactorii (= *Olfactory bulbs* (OB)) und gelangt über arachnoidale Kanäle durch die Lamina cribrosa (= *cribriform plate* (CP)) in Lymphgefäße der nasalen Submucosa (\*). Nasenschleimhaut = *nasal mucosa* (NM). Diese Kanäle unterscheiden sich vom Verlauf der Nervi olfactorii (= *Olfactory nerves* (ON)) (WELLER ET AL., 1992).

schließlich durch die Lamina cribrosa hindurch direkte Verbindung mit Lymphgefäßen der Nasenschleimhaut (Fig. 4).

Innerhalb der Nasenschleimhaut konnten GOMEZ ET AL., 1985 lichtmikroskopisch beobachten, wie in die Cisterna magna injizierte Meerrettichperoxidase aus Spalten zwischen Epineurium und Perineurium von kleineren Ästen des Nervus olfactorius in die Lymphgefäße der nasalen Submucosa gelangt. In der Elektronenmikroskopie stieß sie auf interendotheliale Spalten in der Wand von Lymphgefäßen, durch die der Marker scheinbar in die nasalen Lymphgefäße gelangt. KOORNSTRA ET AL. (1991) untersuchten ebenfalls die lymphatischen Verhältnisse im Bereich der Nasenhöhle an der Ratte. Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht ein länglich geformtes, parachoanal gelegenes, lymphatisches Organ, welches als *nasal-associated lymphoid tissue* (NALT) oder *Waldeyer ring equivalent* (WRE)<sup>1</sup> bezeichnet wird. Histologische, ultrastrukturelle Untersuchungen und FACS-Analysen zeigten, daß es sich um ein lympho-epitheliales Organ handelt, das die für Lymphknoten typische postkapillären Venolen (HEVs) und zahlreiche immunkompetente B- und T-Zellen enthält. Desweiteren zeigten Tracerstudien mit <sup>125</sup>I-makiertem IgG, daß eine Stunde nach Injektion in das NALT eine deutliche Anreicherung in den tiefen cervikalen- und eine geringere Anreicherung in den oberflächlichen cervikalen Lymphknoten zu verzeichnen ist.

#### 2.1.1.4. Der spinale Subarachnoidalraum

Der kraniale Subarachnoidalraum ist über das Foramen magnum mit dem spinalen Liquorraum verbunden. Dies betrifft auch die Hirnhäute, die ihre Schichtung im Spinalkanal fortsetzen. Der spinale Subarachnoidalraum wird von einer komplexen Anordnung von Bändern durchspannt. Das Ligamentum denticulatum bildet auf beiden Seiten lateral des Rückenmarkes fokale Verbindungen zwischen dem subpialen Bindegewebe und den Durazellschichten. Feine gefensterete Bänder, die durch eine intermediäre Arachnoidalzellschicht gebildet werden, ziehen durch den ventralen und dorsalen Subarachnoidalraum. Dieses intermediäre Netzwerk dehnt sich auch auf die Nervenwurzeln und auf die Gefäße aus (Fig. 5). An den Stellen, wo Gefäße und Nerven den spinalen Subarachnoidalraum verlassen, schlägt die Arachnoidea auf die Oberfläche dieser Strukturen

---

<sup>1</sup> Die Bezeichnung WRE rührt von der Annahme her, daß dieses Gewebe den Rachenmandeln beim Menschen entspricht.



um und umschließt diese mit einer dünnen leptomeningealen Zellschicht. Die funktionelle Beziehung zwischen Extrazellulärflüssigkeit, perivaskulären Räumen und Subarachnoidalraum entspricht deren innerhalb des Neurocraniums (CIFUENTES ET AL., 1992).

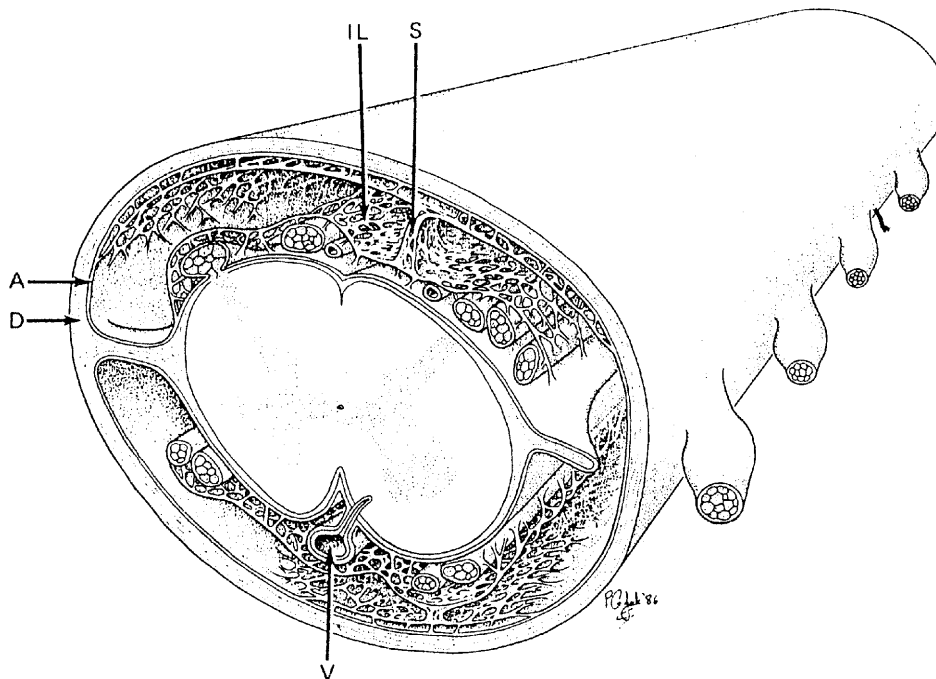


Fig. 5: Schematische Darstellung des menschlichen Rückenmarkes mit seinen umgebenden Häuten. Die Arachnoidea (A) liegt unmittelbar der Dura (D) an. Zwischen Arachnoidea und Pia liegt eine intermediäre Zellschicht (*intermediate layer* (IL)), die aus Arachnoidalzellen besteht. Diese Zellschicht ist gefenestert, haftet am inneren Anteil der Arachnoidea und bildet an einer Stelle eine Umschlagfalte zwischen den äußeren Häuten und dem Rückenmark, welche als dorsales Septum (S) bezeichnet wird. Gefäße (*vein* (V)) innerhalb des Subarachnoidalraumes sind von einer leptomeningealen Hülle, die in die Pia mater übergeht, umgeben. (NICHOLAS & WELLER, 1988)

Dort, wo die Nerven durch die Dura in die Foramina intervetebralia gelangen, bilden sich sogenannte Subarachnoidalwinkel, an denen der Subarachnoidalraum versiegelt ist (WELLER, 1995). BRIERLEY & FIELD (1948) injizierten Tinte in den Subarachnoidalraum und fanden im Bereich des Subarachnoidalwinkels der spinalen Nervenwurzeln eine Ansammlung von Tinte, die sie *ink-cuff* nannten. Ausgehend von diesem *ink-cuff* beobachteten sie, ähnlich wie in der Arbeit von KIDA ET AL. (1993) im Bereich der Lamina cribrosa gesehen wurde, kleine schwarze Kanälchen, die in das die Nervenwurzel umgebende Gewebe zogen. Genauer betrachtet sind in diesem Bereich keine eindeutigen anatomischen Korrelate für derartige Kanäle zu finden (MCCABE & LOW, 1968). MAILLOT (1991) zitiert in seiner Arbeit REXED & WENSTRÖM (1959) und WELCH & POLLAY (1963), die jeweils im Bereich der spinalen Nervenwurzeln arachnoidale Ausstülpungen beschreiben, die unmittelbar in der Nähe des Subarachnoidalwinkels bis in die Dura, durch die Dura hindurch oder sogar bis in extradural

angrenzende Gefäße reichen. Es fällt auf, daß sich die von MAILLOT (1991) beschriebenen arachnoidalen Ausstülpungen an gleicher Stelle befinden wie die von BRIERLEY & FIELD (1948) beobachteten schwarzen Kanälchen.

Des weiteren gibt es interessante Erkenntnisse in der Bandscheibenforschung, die zumindest innerhalb des Bindegewebes, das den Anulus fibrosus umgibt, Blut- und Lymphgefäße bestätigen können. RUDERT & TILLMANN (1993) suchten innerhalb der Bandscheiben selbst nach Blut- und Lymphgefäßen und stießen dabei mittels der Darstellung von 5'-Nukleotidase-Aktivität (KATO & MIYAUCHI, 1989) auf die feinen Lymphgefäße des angrenzenden Bindegewebes. MIURA ET AL. (1998) bedienten sich bei der enzymhistochemischen Markierung von Lymphgefäßen der spinalen Meningen von Makakenaffen (*Macaca fuscata*) ebenfalls der 5'-Nukleotidase und stellten im Sinne einer Doppelfärbung zusätzlich die enzymhistochemische Aktivität von Alkalischer Phosphatase in benachbarten Blutgefäßen dar (KATO & MIYAUCHI, 1989). Mit Hilfe der von WACHSTEIN & MEISSEL (1957) beschriebenen Färbetechnik gelang es ihnen nach intracisternaler Applikation von Karbonpartikeln, ebendiese innerhalb der markierten epiduralen Lymphgefäße wiederzufinden. Nach der Zuordnung zu den einzelnen Rückenmarkssegmenten konnten MIURA ET AL. (1998) eine Aussage zum Verteilungsmuster der epiduralen Lymphgefäße im Bereich des Rückenmarkes von Makakenaffen treffen (Fig. 6). Diese Zuordnung ergab einen Drainageschwerpunkt auf Höhe des cervikalen Rückenmarkes. Das Verteilungsmuster richtet sich wahrscheinlich nach der Species. BRIERLEY & FIELD (1948) fanden nach Tinteapplikation in das ZNS von Kaninchen überwiegend im cervikalen und lumbosakralen Bereich kleine schwarze Kanälchen im epiduralen Bindegewebe. Bei Ratten liegt eine nähere Untersuchung der Verteilung von epiduralen Lymphgefäßen noch nicht vor.

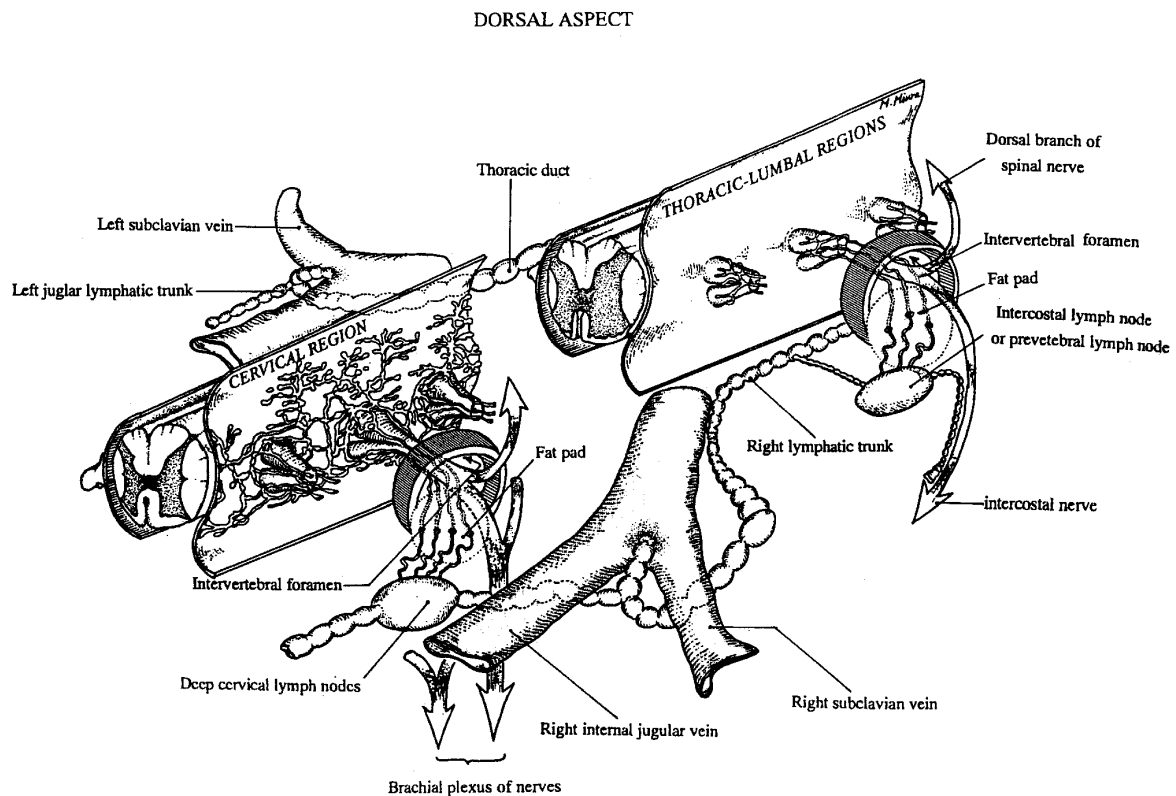


Fig. 6: Schematische Darstellung der spinalen Drainagewege des Liquors nach enzymhistochemischer Markierung epiduraler Lymphgefäße bei Makakenaffen. Es fällt auf, daß sich die cervikale und die thorako-lumbale Region in der Verteilung der epiduralen Lymphgefäße deutlich voneinander unterscheiden (MIURA ET AL., 1998).

## 2.1.2. Funktion

### 2.1.2.1. Regulation der Extrazellulärflüssigkeit des ZNS

Der Liquor wird im Plexus choroideus gebildet, zirkuliert dann durch die einzelnen Ventrikel bis in den Subarachnoidalraum und verläßt diesen - so ist es aus der Anatomie und Physiologie beim Menschen bekannt - hauptsächlich durch die arachnoidalen Granulationen in den venösen Sinus. Ein alternativer Abflußweg, nämlich die Drainage in das lymphatische System, wird schon längere Zeit diskutiert (CSERR ET AL., 1992, JACKSON ET AL., 1979, KIDA ET AL., 1993).

Die Ratte verfügt nur über wenige, rudimentär ausgebildete arachnoidale Granulationen. Folglich muß ein erheblicher Anteil des Liquors über einen alternativen Weg abfließen. Nur ein relativ kleiner Anteil des Liquors verläßt den Subarachnoidalraum über Lymphgefäße der

Dura, während eine größere Menge vermutlich durch anfangs bereits erwähnte arachnoidale Kanäle, welche die Lamina cribrosa durchwandern, in die Lymphgefäße der Nasenschleimhaut gelangt (KIDA ET AL., 1993). Außerdem scheinen auch im Bereich des spinalen Subarachnoidalraumes arachnoidale Kanäle Liquor in das lymphatische System zu drainieren (BRIERLEY, J.B. & FIELD, E.J., 1948, KIDA ET AL., 1993, BOULTON ET AL., 1996, MIURA ET AL., 1998, WOLF ET AL., 1998).

In einer Untersuchung von BOULTON ET AL. (1998) wurde an Schafen demonstriert, daß abhängig von der Steigerung des intrakraniellen Druckes (ICP) auch die Abflußgeschwindigkeit über die extrakraniellen Lymphgefäße ansteigt. Da bei der Ratte ein ähnlich hoher Anteil des Liquors über die Lymphgefäße drainiert wird, liegt es nahe, daß auch in diesem Fall der Liquorabfluß in das Lymphsystem an der Kompensation von erhöhtem intrakraniellen Druck beteiligt ist.

In zahlreichen Untersuchungen an unterschiedlichen Säugetieren hat sich gezeigt, daß etwa 50% des Liquors in die tiefen cervikalen Lymphknoten drainiert werden (BRADBURY ET AL., 1981; CSERR ET AL., 1992; BOULTON ET AL., 1998). Die gesamte Liquormenge ist bei der Ratte wesentlich geringer als beim Menschen, was zur Folge hat, daß beim Menschen wesentlich größere Mengen an Liquor in den Blutkreislauf abfließen. Dies findet zum größten Teil an den arachnoidalen oder Pacchionischen Granulationen statt. Da also der größte Anteil des Liquors den Subarachnoidalraum über die beim Menschen reichlich vorhandenen Granulationen verläßt, gestaltete es sich äußerst schwierig, einen parallelen Lymphabfluß aus dem Subarachnoidalraum, wie dies in den verschiedenen Tierversuchen gelang, zuverlässig darzustellen. Trotzdem muß davon ausgegangen werden, daß wie in Tierversuchen erfolgreich dargestellt auch geringe Mengen an drainiertem Liquor in den Lymphknoten des Halses eine Immunantwort auslösen können (HARLING-BERG ET AL., 1989; KNOPF ET AL., 1995).

#### 2.1.2.2. Die Rolle der Liquordrainage bei der immunologischen Integration des ZNS

Lange galt das Zentralnervensystem in der Wissenschaft als immunprivilegierte Region, in der die Bekämpfung von Alloantigenen durch aktivierte Lymphozyten nur sehr begrenzt stattfand (BRENT, 1990). Diese Erkenntnis beruhte auf den Annahmen, daß die Blut-Hirn-Schranke (BHS) eine effiziente Barriere für immunkompetente Zellen des Blutkreislaufes darstellt und

daß eine Lymphdrainage des Liquors, über die Antigene aus dem ZNS in das lymphatische System gelangen könnten, fehlte. Neuere Untersuchungen zeigen, daß sich die immunologische Integration des ZNS in das lymphatische System komplexer darstellt als früher angenommen. Es wurden Indizien dafür gefunden, daß aktivierte T-Zellen durch die BHS in das ZNS gelangen können (HICKEY ET AL., 1991). Somit wurde die Existenz eines efferenten Armes, ausgehend vom lymphatischen System in das ZNS, bestätigt. Die Erkenntnis, daß auch eine Lymphdrainage aus dem ZNS hinaus existiert, ist in mehreren Studien an Säugern gezeigt worden (KIDA ET AL., 1995; WELLER ET AL., 1992). Außerdem scheint dieser Drainageweg großen Einfluß auf die Antikörperproduktion innerhalb der tiefen cervikalen Halslymphknoten zu besitzen (HARLING-BERG ET AL., 1989; KNOPF ET AL., 1995). Es gibt zwei Mechanismen, über die Antigene dem peripheren Immunsystem präsentiert werden könnten. Zum einen durch die beiden antigenpräsentierenden Zellen des ZNS: die Mikroglia und die Perivaskulären Zellen. Diese Zellen liegen jedoch fern von regionalen Lymphknoten und die Lymphozytenzirkulation durch das normale ZNS ist, wenn überhaupt vorhanden, sehr gering. Zum anderen könnten antigenpräsentierende Zellen oder Antigene selbst in die tiefen Halslymphknoten drainiert und dort prozessiert werden. Die Liquordrainage in das lymphatische System des Halses, deren Untersuchung in dieser Arbeit im Mittelpunkt stehen soll, erfüllt die Funktion des afferenten Armes zwischen ZNS und lymphatischem System.

## 2.2. DER LYMPHKNOTEN

### 2.2.1. Anatomie

#### 2.2.1.1. Struktureller Aufbau und Zytoarchitektur

Die funktionellen Kompartimente der meist bohnenförmigen Lymphknoten sind von einer kollagenfaserigen Kapsel umgeben. Ausgehend von der Kapsel ziehen fibröse Trabekel in das Innere des Lymphknotens und bilden einen Teil des Stützgerüsts. Neben der Kapsel und zahlreichen Trabekeln gewährleistet ein Gerüst aus Retikulinfasern, die mit den Trabekeln in Verbindung stehen, die strukturelle Integrität des Lymphknotenlumens und bieten den lymphatischen Zellen Halt.

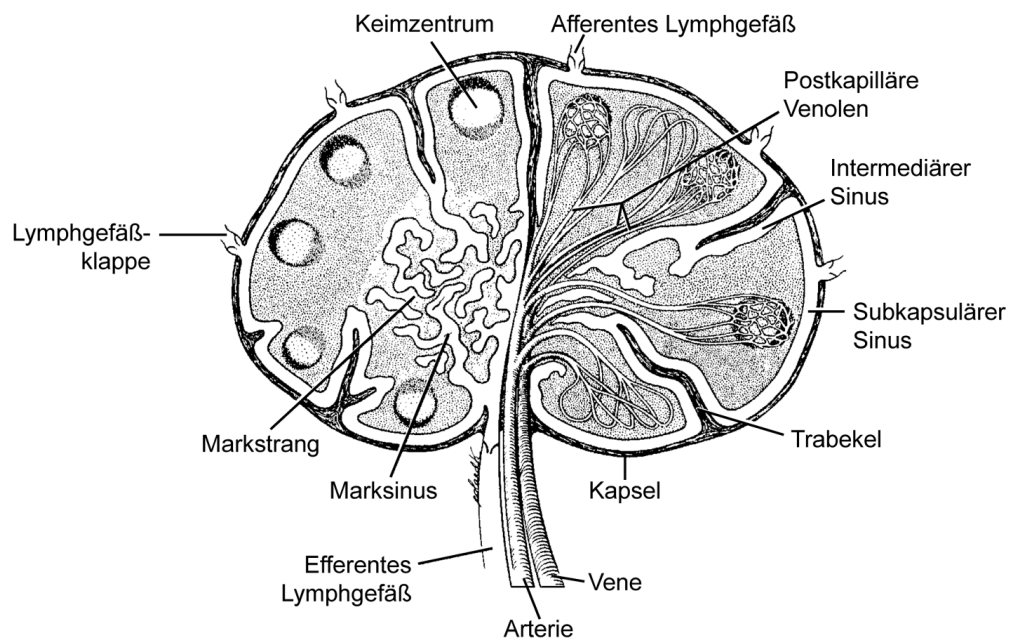


Fig. 7: Schema eines Lymphknotens. In der linken Hälfte kommen die räumliche Aufteilung des immunologischen Apparates und der Drainage wege durch den Lymphknoten hindurch zur Darstellung. In der rechten Hälfte sind die Gefäßversorgung und das bindegewebige Gerüst des Lymphknotens erkennbar (RAVIOLA, 1994).

Der konvexe Teil der Kapsel wird ausschließlich von afferenten Lymphgefäßen durchbohrt, die ihren Inhalt in den Lymphknoten entleeren. Die den Lymphknoten versorgenden Gefäße und das immer einzeln vorliegende efferente Lymphgefäß durchbrechen am Hilus die Kapsel. Das jeweilige efferente Lymphgefäß stellt also ein Sammelgefäß für die afferenten

Lymphgefäße dar. Folglich reduziert jeder Lymphknoten die Anzahl der Lymphgefäße, bis sich der Ductus lymphaticus dexter in den Blutstrom der Vena cava entleert. Die Lymphknotensinus werden von Endothelzellen, auch Uferzellen oder *flat lining cells* (VILLENA ET AL., 1983) genannt, begrenzt und von einem Geflecht aus fibroblastenartigen, sogenannten rethelialen Zellen ausgespannt (SCHMELZ & FRANKE, 1993). Die afferenten Lymphgefäße münden in den subkapsulären Sinus, der mit Ausnahme des Hilusbereiches unmittelbar der Kapsel anliegt und somit den ersten Raum darstellt, in den eine Drainage von Korpuskeln innerhalb des Lymphknotens zu beobachten ist. Von dort aus ziehen zahlreiche kortikale Sinus in Richtung Hilus, nennen sich erst intermediäre Sinus und in tieferen Schichten dann medulläre Sinus, die sich zu einem efferenten Lymphgefäß vereinen.

Das Lymphknotenparenchym läßt sich grob in Kortex und Medulla unterteilen. Innerhalb des Kortex kann ein äußerer Kortex, der Lymphfollikel und internoduläres diffuses lymphatisches Gewebe umfaßt, von einem inneren Kortex, besser bekannt als Parakortex, der ausschließlich aus einem diffusen lymphatischen Gewebe besteht, abgegrenzt werden. Der äußere Kortex ist dichter als der innere und der gesamte Kortex ist dichter als die Medulla. Die Lymphfollikel können in zwei verschiedenen funktionellen Formen vorliegen: Zum einen als Primärfollikel mit einer einheitlichen Zelldichte, zum Anderen als Sekundärfollikel, der sich optisch in eine Mantelzone und ein germinales Zentrum mit einer hellen und einer dunklen Zone einteilen läßt. Dichtere Lymphozytenansammlungen im Parakortex werden Tertiärfollikel genannt, diese bilden jedoch niemals germinale Zentren aus. Parenchymstränge, die ausgehend vom Parakortex in Richtung Hilus ziehen, werden Markstränge genannt und zur Medulla gerechnet. Den genannten Parenchymregionen lassen sich bestimmte Zellpopulationen zuordnen. Die Primär- und Sekundärfollikel enthalten überwiegend B-Lymphozyten, während das interfollikuläre diffuse Gewebe des äußeren und inneren Kortex T-Lymphozyten enthält. In der Medulla findet man hauptsächlich Blasten und Plasmazellen (Fig. 10).

Die Blutversorgung des Lymphknotens wird durch eine Arterie und eine Vene, die im Bereich des Hilus in den Lymphknoten ein- und auch wieder austreten, gesichert. Eine Besonderheit im Gefäßsystem des Lymphknotens stellen die postkapillären Venolen (*high endothelial venules*; HEV) dar. Sie verlaufen im Parakortex und zeichnen sich durch ein spezialisiertes, hochprismatisches Endothel aus, welches in der Lage ist, durch bestimmte

Rezeptorinteraktionen Lymphozyten aus der Venole in den Parakortex gelangen zu lassen (Fig. 7 & 10)(STEVENS & LOWE, 1997).

### 2.2.1.2. Lokalisation und Nomenklatur

Die Benennung der Lymphknoten der Ratte ist in der Literatur sehr uneinheitlich. Wir haben uns für die Einteilung nach den Arbeiten von MIOTTI (1965) und ALOGNINOVA (1995) entschieden, weil sie der Benennung der Lymphknoten in der Veröffentlichung “CSF drains directly from the subarachnoid space into nasal lymphatics in the rat. Anatomy, histology and immunological significance.“ (KIDA, PANTAZIS & WELLER, 1993) am nächsten kommt. Bei der Lokalisation und Präparation der jeweiligen Lymphknoten haben wir uns von eben dieser Arbeitsgruppe um Roy Weller beraten lassen.

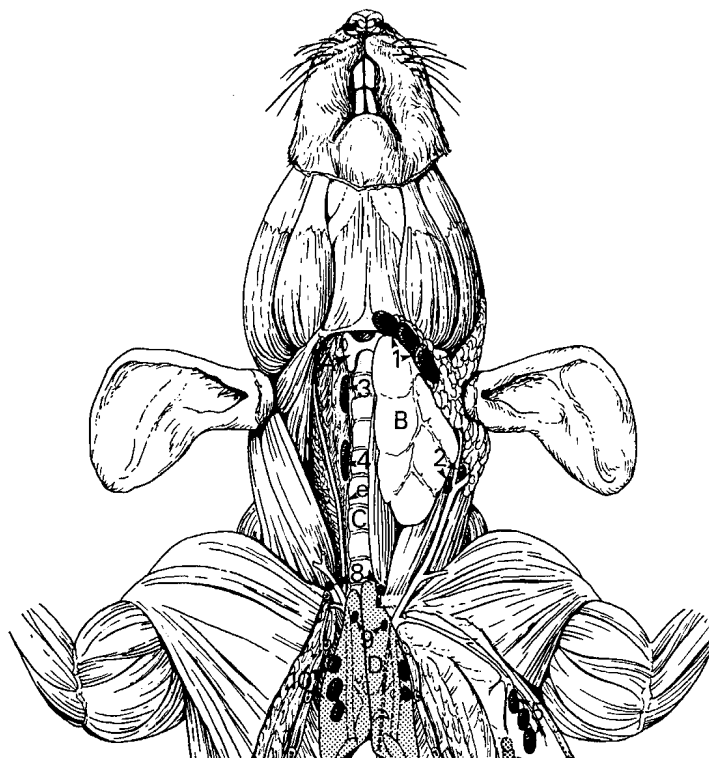


Fig. 8: Schema der ventralen Kopf-und Halspartie nach Entfernung der Haut und des Hautmuskels. Links wurde das Lymphocentrum submentale (1) (in manchen Publikationen auch Lc. mandibulare genannt), den Ln. parotidicus (2) (teilweise auch als Lc. cervicale superficiale bezeichnet) und die Glandula mandibularis (B) entfernt. Darunter kommen dann die tiefen cervikalen Lymphknoten, Ln. cerv. prof. cran. (3) und Ln. cerv. prof. caud. (4), die Trachea (C) und die Glandula thyroidea (A) zum Vorschein. (HEBEL & STROMBERG, 1986)



Die Drainagebereiche des Halses verteilen sich auf oberflächliche und tiefer gelegene Lymphknoten. Zu den oberflächlichen Anteilen gehört das Lymphocentrum submentale (Lymphnoduli submandibulares), welches sich am oberen Pol der Speicheldrüse befindet und vorwiegend oberflächliche Anteile der rostralen Hälfte des Kopfes, die Zunge, den Mundboden, die Mundschleimhaut und das Ohr drainiert. Weiterhin zählt der Lymphnodus parotidicus, in Höhe der Aufteilungsstelle der Vena jugularis externa gelegen, zum oberflächlichen Lymphabfluß. Er drainiert ebenfalls das Ohr, die Parotis, das Nackengebiet und nimmt die Efferenzen des Lymphocentrum submentale auf. Die tiefer liegenden Lymphknoten im Bereich des Halses werden vom Lymphnodus cervicalis profundus cranialis und caudalis gebildet (COLLI & ZORZETTO, 1980). Diese sind lateral der Trachea und der Vena jugularis interna lokalisiert. Sie drainieren den Mundboden, das Massetergebiet, Zunge, Rachen, die Lymphnodus parotidicus und die Schilddrüse (Fig. 8). Mittlerweile existiert eine beachtliche Anzahl an Publikationen, die das Gehirn ebenfalls zu den Drainagegebieten der tiefen cervikalen Lymphknoten zählen (KIDA ET AL., 1993; CSERR ET AL., 1992; BOULTON ET AL., 1996).

Ähnlich verhält es sich mit den lumbalen paraaortalen Lymphknoten. Die großen Lymphnoduli lumbales liegen kaum zu übersehen am lateralen Rand, etwas kranial der Teilungsstelle der Aorta abdominalis und der Vena cava inferior in die Iliacalgefäße. Ihre Wurzelgebiete beinhalten annähernd die gesamte untere Extremität, Teile der Bauchhöhle, das Ileopsoasgebiet und die Genitalorgane (Fig. 9). Auch hier sprechen einige Erkenntnisse (BRIERLEY ET AL., 1948; KIDA ET AL., 1993; BOULTON ET AL., 1996) dafür, daß der genannten Liste der Spinalraum als Drainagegebiet der Lymphnoduli lumbales hinzuaddiert werden muß. Die Lymphnoduli subilici und der Lymphnodus popliteus dienen uns als Negativkontrolle bezüglich der Drainage von Erythrozyten. Die Erstgenannten, von manchen Beschreibern auch Lymphocentrum inguinofemorale genannt (ALOGNINOVA ET AL., 1995), sind in reichlich Fettgewebe eingebettet, im Bereich der Kniefalte zu finden. Man muß die Bauchhaut medial einschneiden und auseinanderklappen, danach lassen sich die Lnn. subilici unmittelbar in der Nähe der Vasa epigastrica superficialia darstellen, sind jedoch eher schwierig aufzufinden. Sie drainieren den Oberschenkel, die Hüfte, das Skrotum und den lateralen Schwanz. Den Lymphnodus popliteus findet man ebenfalls in einem

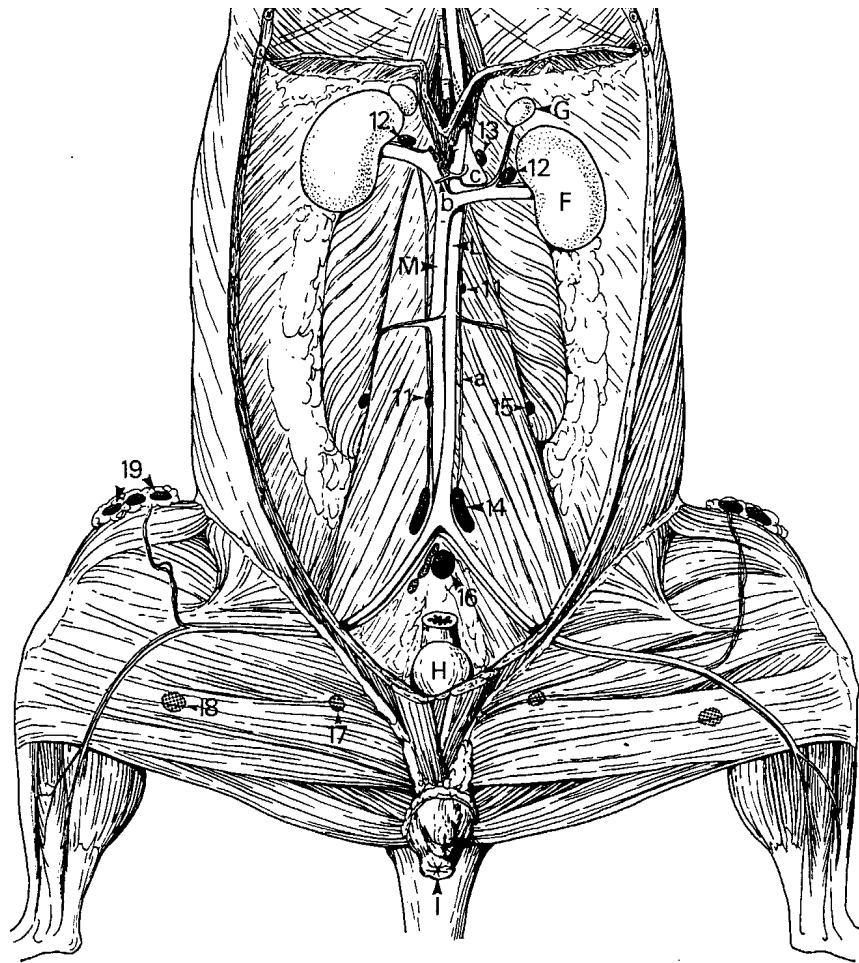


Fig. 9: Schema der Ventralansicht des Unterbauches, des Sakralbereiches und der Extremitäten, nach Entfernung von Haut, Faszien, Bauchdecken und dem Großteil der Beckenhöhlenorgane. Sichtbar werden die Lnn. renalis (12), der Ln. cisternalis (13), die Lnn. paraaortici (11), der Ln. iliacus lat. (15) und die Lnn. lumbales (14&16). Weitere dem Lymphsystem zugeordnete Strukturen sind der Truncus lumbalis (a), der Truncus intestinalis (b) und die Cisterna chyli (c). Die sichtbar belassenen Organe sind die Nieren mit Nebennieren (F&G), die Vena cava caud. (M), die Aorta abdominalis (L) und die Harnblase (H). Im Bereich der Extremitäten kommen der Ln. ischiadicus (17), der Ln. popliteus (18) und die Lnn. subilici (19) (in anderen Publikationen auch Lnn. inguinofemorale genannt) zur Darstellung. (HEBEL & STROMBERG, 1986)

Fettgewebepolster eingebettet, in der Tiefe der Kniekehle. Wenn man die Adduktorenmuskelgruppe von medial aus wegpräpariert, liegt er unmittelbar vor dem Nervus ischiadicus. Sein Drainagegebiet umfaßt das Knie, den Unterschenkel und die Pfote.

Zuletzt sollen noch die Lymphonodi renalis Erwähnung finden, die in der Literatur (KAZEEM ET AL., 1982, HOOG ET AL., 1981, NOPAJAROONSRI ET AL., 1973, CASTENHOLZ & CASTENHOLZ, 1996) als typische Lokalisation von Blutlymphknoten gelten. Diese liegen im Bereich der Nierenhili, kranial der Vena renalis und drainieren die Nieren, die Hoden, den Ovar, den Hauptteil des Uterus und die Trunci lumbales (Fig. 9).

### 2.2.2. Funktion

Lymphknoten erfüllen zwei Hauptfunktionen im Körper. Zum einen sind sie für die Prozessierung immunkompetenter Zellen verantwortlich, zum anderen stellen sie hocheffektive Filter dar, die in den Verlauf von drainierenden Lymphbahnen eingeschaltet sind. Im Lymphknoten lassen sich drei verschiedene funktionelle Kompartimente unterscheiden.

#### 2.2.2.1. Das Lymphknotenparenchym

Im Lymphknotenparenchym, bestehend aus dem oberflächlichen Kortex, dem Parakortex und der Medulla, stellen T- und B-Lymphozyten die überwiegende Population dar. Der immunologische Funktionszustand der Lymphknoten wird durch die Lymphfollikel definiert, welche sich neben den Lymphknoten an zahlreichen lymphatisch aktiven Orten (z.B. Tonsillen, Peyersche Plaques, u.a.) des Organismus wiederfinden lassen. Der Lymphfollikel liegt im primären, einheitlich zeldichten oder im sekundären, aktivierten Zustand vor. Sekundäre Lymphfollikel sind in einen peripheren, dichteren Mantel, der nichtimmunkompetente B-Lymphozyten und einige T-Lymphozyten enthält und ein weniger dichtes germinales Zentrum differenziert. Das

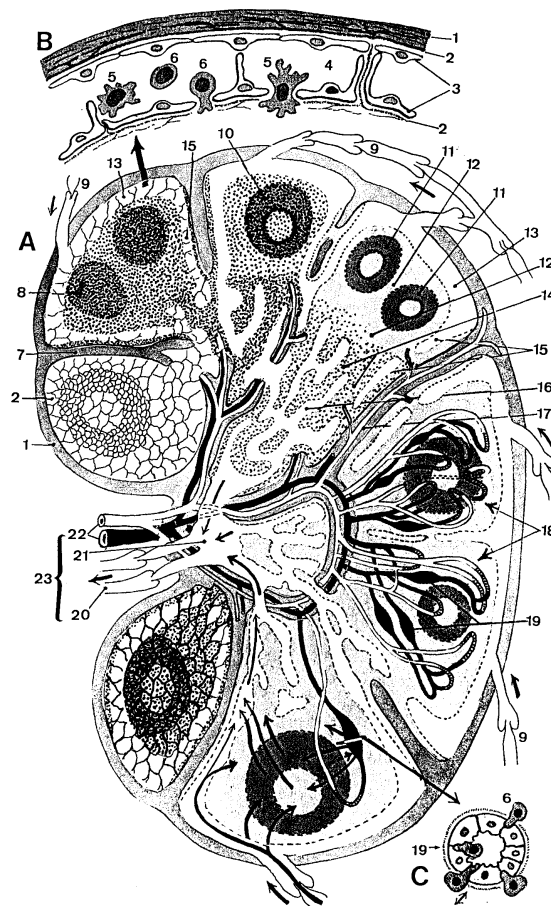


Fig. 10: A. Struktur des Lymphknotens mit Darstellung der Zirkulation von Lymphozyten (Pfeile). B. Struktur eines Sinus. C. Postkapilläre Venole. (1) Kapsel, 2 Retikulumfasern, 3 Sinusendothel, 4 Sinuslichtung, 5 Makrophagen, 6 Lymphozyten, 7 Trabekel, 8 Primärfollikel, 9 Afferente Lymphgefäße, 10 Sekundärfollikel, 11 Äußere Rinde (B-Zell-Areal), 12 Innere Rinde (Paracortex; T-Zell-Areal), 13 Marginalsinus (Randsinus), 14 Markstränge, 15 Intermediärsinus, 16 Marksinus, 17 Trabekelarterie, 18 Gefäßversorgung der Rinde, 19 Postkapilläre Venolen, 20 Efferente Lymphgefäße, 21 Terminalsinus, 22 Arterie (weiß) Vene (schwarz), 23 Lymphknotenhilus. (FÖLDI & KUBIK, 1991)

germinale Zentrum ist der Hauptort der Antikörperbildung, wobei sich in der hellen Zone vorwiegend differenzierte und proliferierende B-Lymphozyten, Blasten und einige Plasmazellen befinden. Die dunklere Zone enthält große und mittelgroße Lymphozyten und Blasten im Stadium der Transformation in Plasmazellen und Makrophagen (Fig. 10).

### 2.2.2.2. Die Gefäße des Lymphknotens

Die Vasa privata des Lymphknotens, die sich durch spezialisierte postkapilläre Venolen (*high endothelial venules*; HEV) auszeichnen, spielen für die Migration von Lymphozyten aus dem Blutkreislauf in das Lymphknotenparenchym eine entscheidende Rolle. Davon abgesehen

gewährleisten sie die Blutversorgung des Lymphknotens. Auf der Strecke der HEV exprimiert das Endothel Oberflächenmoleküle (ICAM-1), die von reifen, zirkulierenden Lymphozyten, die Homingrezeptoren (LFA-1) auf ihrer Oberfläche tragen, erkannt werden. Früher bestand die Annahme, daß die Lymphozyten transzellulär durch die Endothelzellen wandern, heute mehren sich die Hinweise, daß die Lymphozyten zwischen den Endothelzellen (also interzellulär) hindurchgelangen. ANDERSON & SHAW (1993) sprechen in ihrer Arbeit von *spot-welded-* oder *non-occluding junctions*, die im Gegensatz zu den *tight junctions* das Epithel der postkapillären Venolen nur diskontinuierlich miteinander verschweißen. Diese Eigenschaft, welche die postkapillären Venolen von normalen Endothelien in

Gefäßen unterscheidet, ermöglicht erst die schnelle und massive Einwanderung von Lymphozyten in das Lymphknotenparenchym. Der Migration von Lymphozyten aus den HEV in das Lymphparenchym geht das sogenannte Leukozyten-rolling voraus. Das rolling ist

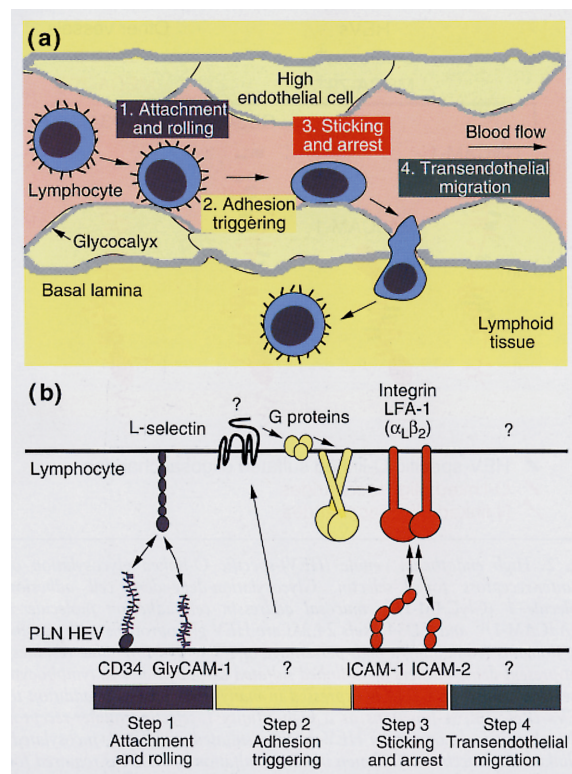
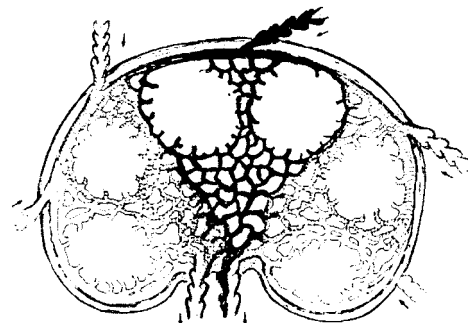


Fig. 11: (a) Lymphozytenemigration innerhalb der HEV's. Zuerst treten die Leukozyten über Mikrovilli mit den HEV's in Kontakt und torkeln (Leukozytenrolling) entlang des Endothels (1. Attachment & rolling). Die Regulation der Leukozytenanhaftung (2. Adhesion triggering), die mittels membranständiger Proteine Stabilität gegenüber den physiologischen Scherkräften erlangt (3. Sticking & arrest), ist noch unklar. Die Migration durch die interzellulären Haftstellen (4. Transendothelial migration) ist ebenfalls noch nicht endgültig geklärt. (b) Im unteren Teil sind die an der Migration beteiligten membranständigen Moleküle aufgezeigt. (GIRARD & SPRINGER, 1995).

ein Vorgang, durch den, nach Interaktion zwischen dem auf Lymphozyten exprimierten L-Selektin und den HEV-ständigen *mucin-like*-Rezeptoren, CD 34 und GlyCAM-1, die im Kreislauf zirkulierenden Lymphozyten -bildlich gesprochen- von der Geschwindigkeit eines Sportwagens auf Schrittgeschwindigkeit abgebremst werden. Ohne jene transienten Rezeptorbindungen, welche die Lymphozyten entlang des Endothels torkeln lassen (daher der Begriff *rolling*), wäre die Grundlage für eine Migration in den Lymphknoten nicht gegeben. Die einzelnen Rezeptorinteraktionen der Lymphozytenmigration im Bereich der HEVs sind zusammenfassend auf dem folgenden Schema (SPRINGER, 1994) geschildert (Fig. 11).

### 2.2.2.3. Zirkulation der Lymphflüssigkeit im Lymphknoten

Die Lymphsinus, die mit einem speziellen Endothel ausgekleidet sind und mit den afferenten und efferenten Lymphgefäßen kommunizieren, bedingen, daß sich die Lymphe im gesamten Lymphknoten verteilen kann. Die Strömungsgeschwindigkeit der Lymphe wird dadurch stark herabgesetzt, so daß Sinusmakrophagen, mit ihren langen verzweigten Zytoplasmaausläufern, mehr Zeit bleibt, drainierte Zellen, Organismen, Teilchen und lösliche Antigene an sich zu binden und heraus zu filtrieren. Die Füllung des Lymphknotens, die von den Druckverhältnissen in seinen afferenten Gefäßen abhängt, folgt einzelnen Sektoren, die topographisch den afferenten Lymphgefäßen zugeordnet werden können (BELISLE & SAINTE-MARIE, 1981). Tierversuche mit injizierten Farbstoffen haben gezeigt, daß diese bei normalen Druck-verhältnissen den kürzesten Weg durch nur einen Sektor nehmen.



Sektorartige Füllung der Lymphknoten (Földi & Kubik, 1991).

Nach FOSSUM (1980) gibt es grundsätzlich drei verschiedene Wege, welche über die afferenten Lymphgefäße in den Lymphknoten gelangte Korpuskel nehmen können (Fig. 12). Die Zellen können den subkapsulären Sinus durch den intermediären Sinus (auch kortikaler Sinus genannt) verlassen und erreichen in den tiefergelegenen Schichten den medullären Sinus (1). Des weiteren können sie im subkapsulären Sinus das Lymphendothel durchdringen und in den oberflächlichen Kortex gelangen. Von dort aus wandern sie entweder in den tiefer gelegenen Parakortex (2) oder direkt in die Keimzentren (3).

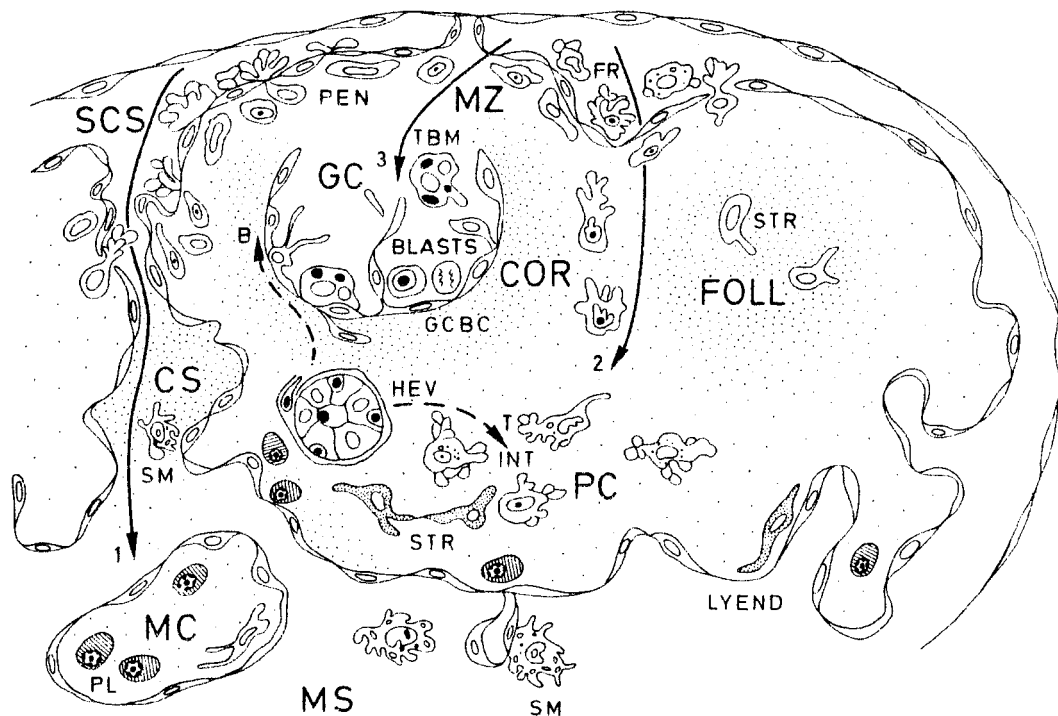



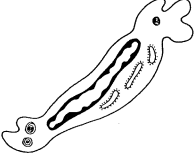
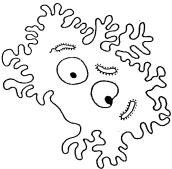
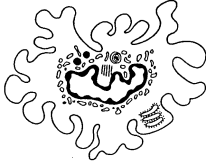


Fig. 12: Schema zur Lymphdrainage von Zellen innerhalb der Lymphknoten. Subkapsulärer Sinus (SCS), Kortikaler Sinus (CS), Medullärer Sinus (MS), Lymphendothel (LYEND), Parakortex (PC), *germinal centers* (GC) = Keimzentren, *penetrating cells* (PEN) = Zellen, die das Lymphendothel durchdringen, Marginalzone (MZ), *tingible body macrophages* (TBM) = Makroph. mit anfärbbaren Körperchen, *interdigitating cells* (INT) = interdigitierende Zellen, *frilly cells* (FR) = gekräuselte Zellen, Sinusmakrophagen (SM), *medullary cords* (MC) = Markstränge, Plasmazellen (PL), *GC bordering cells* (GCBC) = Keimzentrum begrenzende Zellen, B-Zellen gelangen über die postkapitären Venolen (HEV = *high endothelial venules*) in den Lymphknoten und wandern in die Primärfollikel (FOLL) bzw. in deren sogenannte *lymphocyte corona* (COR) (unterbrochener Pfeil B). T-Zellen nehmen den gleichen Weg, siedeln sich aber im Parakortex (PC) an (unterbrochener Pfeil T) (FOSSUM, 1980).

### 2.2.3. Heterogenität der Makrophagen innerhalb des Lymphknotens

Die Vorläufer von Makrophagen stellen die sich innerhalb des Knochenmarkes differenzierenden Monozyten dar, die sich dann nach Verlassen der Blutbahn in den unterschiedlichen Geweben oder Organen zu funktionsspezifischen Makrophagen weiterentwickeln. Diese unterscheiden sich in ihrer Morphologie, Dichte, Enzymaktivität, Membranoberfläche und ihren funktionellen Fähigkeiten (STEVENS & LOWE, 1997). Wie in der Überschrift schon angedeutet beschränkt sich die weitere Beschreibung der äußerst heterogenen Makrophagenpopulation auf die im Lymphknoten vorkommenden Typen (Tab. 1):

Tab. 1: Auflistung der innerhalb des Lymphknotens vorkommenden Makrophagen-Typen (modifiziert nach FOSSUM &amp; VAALAND, 1983, DIJKSTRA ET AL., 1985).

Makrophagen-Typ	Morphologie	Lokalisation und Funktion
<p><u>Vorwieg. phagozytierende Zellen:</u> Sinusmakrophagen (SM)</p> 	<p>Der Nucleus birgt einen Rand aus kondensiertem Chromatin und einen dichten Nucleolus. Das Cytoplasma enthält zahlreiche Phagolysosomen. Auf der Zelloberfläche befinden sich sphärische Fortsätze (Pseudopodien).</p>	<p>Subkapsulärer- und kortikaler Sinus. Stark phagozytotisch aktive Zellen (Positivität für ED1)</p>
<p>Verschleierte Zellen (<i>Veiled cells</i> (VC))</p> 	<p>Die Zelloberfläche wird mit einem verschleierten Aussehen in der Elektronenmikroskopie umschrieben.</p>	<p>Subkapsulärer Sinus. APC<sup>1</sup> (Positivität für ED1, jedoch nicht für ED2 und ED3)</p>
<p>Makrophagen mit anfärbaren Körperchen (<i>tingible body m.</i> (TBM))</p> 	<p>Der Nucleus ist glatt berandet, oval und blaß. Das Cytoplasma wirkt hell und enthält große, blaue und dunkelbraune Körperchen, welche sich durch einen hohen Gehalt an Zelltrümmern und eine Fülle an lysosomalen Enzymen auszeichnen.</p>	<p>Keimzentren. Phagozytose.</p>
<p>Marginalzonen-Makrophagen</p> 	<p>Morphologisch uneinheitliche Gruppe bestehend aus großen, ovalen Zellen mit einem blaßen Nucleus. Das Cytoplasma kann in Menge und Aussehen (blaß bis dunkelbraun mit dunkelbraunen Granula) stark variieren und enthält einige Lysosomen und teilweise auch Phagosomen.</p>	<p>Follikelinterstitium unmittelbar unter dem subkapsulären Sinus. Phagozytose.</p>
<p><u>Antigenpräsentierende Zellen:</u> Follikuläre dendritische Zellen (<i>follicular dendritic cells</i> (FDC))</p> 	<p>Die Nuclei erscheinen hell mit feinem Chromatin und kleinen Nucleoli (FDC sind multinucleär). Im Gegensatz zu Makrophagen enthalten sie kaum endozytotische Vesikel oder Lysosomen. Sehr charakteristisch sind die zahlreichen, fein verzweigten Zellausläufer, die häufig mit B-Lymphozyten in Kontakt stehen.</p>	<p>Kappenregion (Coronae) der Follikel. APC<sup>1</sup>, die malformierte B-Lymphozyten eliminieren (Negativität für ED1).</p>
<p>Interdigitierende Zellen (<i>Interdigitating cells</i> (IDC))</p> 	<p>Der Nucleus ist unregelmäßig geformt. Das reichliche Cytoplasma variiert zwischen braun und sehr blaß, mit zentral gelegenen, kleinen, dunklen Granula. Weiterhin sind Organellen in unterschiedlichen Stadien des Unterganges und wenig Lysosomen abgrenzbar. Die Zelloberfläche besteht aus zahlreichen, dicken Ausstülpungen.</p>	<p>Innerer Kortex (Parakortex). APC<sup>1</sup> (Positivität für ED1).</p>

<sup>1</sup>antigenpräsentierende Zelle = antigen-presenting cell (APC): APC phagozytieren antigenes Material, verarbeiten es und bieten Fragmente davon Lymphozyten an. Sie stammen von Monozyten ab und exprimieren Marker der Leukozytenzelllinie. Obwohl pinozytisch aktiv, besitzen sie nur einen geringen Bestand an lysosomalen Enzymen und unterscheiden sich dadurch von anderen auf Phagozytose spezialisierten Zellen, die sich von Monozyten ableiten. Im Lymphknoten bezeichnet man sie als dendritische Retikulumzellen.

## 2.2.4. Der Blutlymphknoten

### 2.2.4.1. Charakterisierung des Blutlymphknotens

Ein wesentliches Kriterium für die Unterscheidung von Blutlymphknoten und normalen Lymphknoten ist die ausgeprägte Menge von Erythrozyten in den Lymphsinus. In einer Arbeit von GIBBES (1884) fanden Blutlymphknoten erstmalig Erwähnung. Er beobachtete im perinephrotischen Bindegewebe des Menschen, das in unmittelbarer Nachbarschaft der Nierengefäße liegt, Strukturen, die sich mit dem Begriff Blutlymphknoten gut umschreiben ließen. Es folgten weitere Studien zur Existenz von Blutlymphknoten beim Menschen (ROBERTSON, 1890; WARTHIN, 1901), sowie bei Ratten, Mäusen, Meerschweinchen, Ziegen, Rindern und Schafen ( ROBERTSON, 1890; VINCENT & HARRISON, 1897; DRUMMOND, 1900; WHITE, 1904; McMILLAN, 1928; SELYE & SCHENKER, 1939; ERENCIN, 1948). ROBERTSON prägt 1890 erstmalig den Begriff *haemolymph node*. Bei der Ratte gibt es kaum eine Stelle, an der nicht schon einmal Blutlymphknoten beschrieben worden sind (DRUMMOND, 1900; SELYE & SCHENKER, 1939; ERENCIN, 1948; NOPAJAROONSRI ET AL., 1974; KAZEEM ET AL., 1982; ABU-HIJLEH & SCOTHORNE, 1996). Der Bereich um die Nierenhili und Nierengefäße wird in der Literatur in zahlreichen Arbeiten als typische Lokalisation von Blutlymphknoten angesehen, so daß wir ebenfalls unser Untersuchungsmaterial an dieser Stelle gewonnen haben (NOPAJAROONSRI ET AL., 1974, CASTENHOLZ & CASTENHOLZ, 1996).

Lange Zeit gab es bezüglich der Anatomie der Blutlymphknoten sehr unterschiedliche Ansichten. Erst NOPAJAROONSRI ET AL. (1974) lieferten eine sehr detaillierte elektronenmikroskopische Untersuchung, die keine wesentlichen Unterschiede beim strukturellen Aufbau der Blutlymphknoten und normalen Lymphknoten zeigte.

Die Frage nach dem Drainageweg und der Herkunft der Erythrozyten in den Lymphsinus verursacht bis heute große Konfusion. Es stehen zwei wesentliche Hypothesen im Raum: Zum einen existiert die Ansicht, daß die Erythrozyten ähnlich den Lymphozyten im Bereich der postkapillären Venolen des Blutlymphknotens durch das hohe Endothel (*high endothelial venules, HEVs*) in den Parakortex schlüpfen und von dort in die Lymphknotensinus gelangen (TURNER, 1969; NOPAJAROONSRI ET AL., 1974). Zum anderen besteht die These, daß die Erythrozyten, wie auch in normalen Lymphknoten, über die afferenten Lymphgefäße in die



Lymphknotensinus drainiert werden (HOGG ET AL., 1982; KAZEEM ET AL., 1982; ABBAS ET AL., 1983). HOGG ET AL. (1982) haben aus der Existenz von afferenten Lymphgefäßen in Blutlymphknoten den Schluß gezogen, daß die Erythrozyten bereits außerhalb des Blutlymphknotens in die afferenten Lymphgefäße gelangt sein müssen. Sie wiesen innerhalb des Nierenparenchyms in kleinsten, unmittelbar den Nierenarteriolen anliegenden Lymphgefäßen Erythrozyten nach. So entstand die Annahme, diese Erythrozyten seien durch Diapedese aus den Nierenarteriolen in die benachbarten Lymphgefäße eingedrungen und würden auf diese Weise eine ständige Erythrozytendrainage in den renalen Lymphknoten erklären (HOGG ET AL., 1982).

#### 2.2.4.2. Unterschiede zwischen Lymphknoten und Blutlymphknoten

Da, wie schon erwähnt, Blutlymphknoten in ihren Lymphknotensinus erhebliche Mengen an Erythrozyten aufweisen, wurde es für unsere Untersuchungen sehr wichtig, ein klares Unterscheidungsmerkmal zwischen Blutlymphknoten und normalen Lymphknoten zu finden. Nachdem der jetzige Stand der Forschung keinerlei strukturelle Unterschiede zwischen den beiden Lymphknotenarten zuläßt, erweist sich eine Unterscheidung auf Grund der Anatomie als ungeeignet.

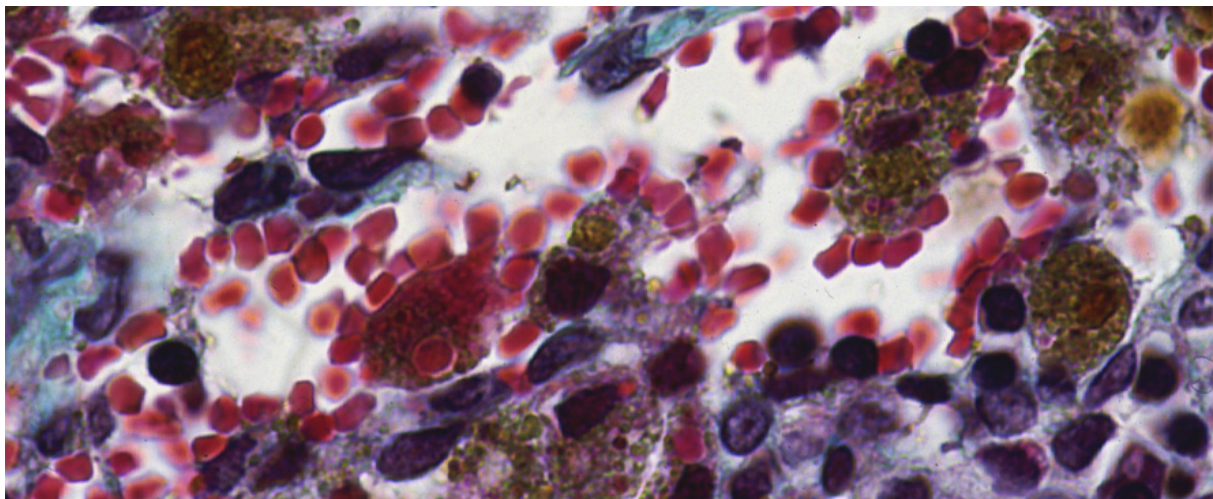


Abb. 1: Innerhalb der Sinusmakrophagen abgelagertes Hämosiderin. Blutlymphknoten (Ln. Renalis), 3 d post trauma, Färb.: Goldner, Vergr.: 100x.

Bei unseren Untersuchungen fiel relativ schnell auf, daß die renalen Lymphknoten, die ja in der Literatur als typische Lokalisation für Blutlymphknoten gelten, ganz im Gegensatz zu den

restlichen Lymphknotenlokalisationen in sämtlichen untersuchten Tieren große Mengen an Hämosiderinpigment und Eisen enthielten (Abb. 1). Die normalen Lymphknoten zeigen überwiegend ab dem fünften Überlebenstag nach dem Schädelhirntrauma Hämosiderin (Abschn. 5.2.4.1.). Die Hämosiderin- und Eisenablagerungen sprechen dafür, daß in den renalen Lymphknoten ständig Erythrozyten abgebaut werden. Während in Lymphknoten, die Erythrozyten eines einmaligen Traumas drainieren, zu einem definierten Zeitpunkt Hämosiderin und Eisen nachweisbar sein müßte. Dies fanden wir in unseren Beobachtungen bestätigt (Abschn. 5.2.4.1.). Beim elektronenmikroskopischen Vergleich zwischen der Erythrozytenbindung an Sinusmakrophagen von normalen Lymphknoten und Blutlymphknoten konnten wir keine wesentlichen Unterschiede feststellen.

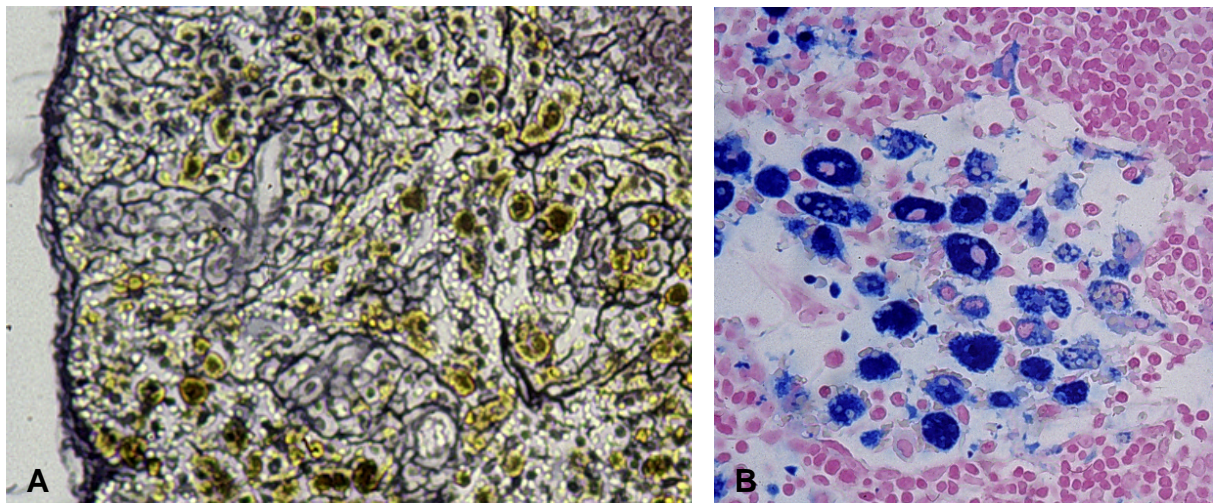


Abb. 2: A. Innerhalb der Sinusmakrophagen abgelagertes Hämosiderin. Blutlymphknoten (Ln. Renalis), 7 d post trauma, Färb.: Silberimprägnation *n. Gomori*, Vergr.: 20x. B. Ebenso läßt sich in den Sinusmakrophagen von Blutlymphknoten mit der Berlinerblau Reaktion reichlich dreiwertiges Eisen nachweisen. Blutlymphknoten (Ln. Renalis), 28 d post trauma, Färb.: Berlinerblau Reaktion, Vergr.: 40x.

In der *Goldner*-Färbung läßt sich der ständige Erythrozytenabbau in den Blutlymphknoten besonders eindrucksvoll darstellen (Abb. 1). Das gelblich-bräunlich schimmernde Hämosiderin in den Sinusmakrophagen ist deutlich zu erkennen. Weitere Färbungen, die sich für die Darstellung von Hämosiderin und Eisen im Blutlymphknoten hervorragend eignen, sind die Silberimprägnation *nach Gomori* und die Berlinerblau Reaktion (Abb. 2A/B).

## 2.2.5. Darstellung der Kompartimente des Lymphknotens mit Antikörpern

### 2.2.5.1. Desmoplakin

1993 wurde in einer Untersuchung von SCHMELZ und FRANKE eine neue Form in der Gruppe der Zellhaften zwischen Zellmembranen beschrieben. Bisher waren nur zwei Kategorien interzellulärer Membrankontakte bekannt, die Zonula adhaerens und die Macula adhaerens. Letztere wird im allgemeinen auch als Desmosom bezeichnet. Die dritte, neue Kategorie wird mit dem Begriff Complexus adhaerentes umschrieben und unterscheidet sich durch Größe und ausschließlichen Gehalt von Plakoglobin und Desmoplakin. Die Bedeutung der Complexus adhaerentes für unsere Untersuchung besteht zum einen darin, daß diese besondere Form der Zellhaften ausschließlich an den sehr flachen Endothelzellen von Lymphgefäßen und im Netzwerk der Lymphknotensinus vorkommt, zum anderen ist ein Antikörper, der gegen das enthaltene Desmoplakin gerichtet ist, kommerziell erhältlich.

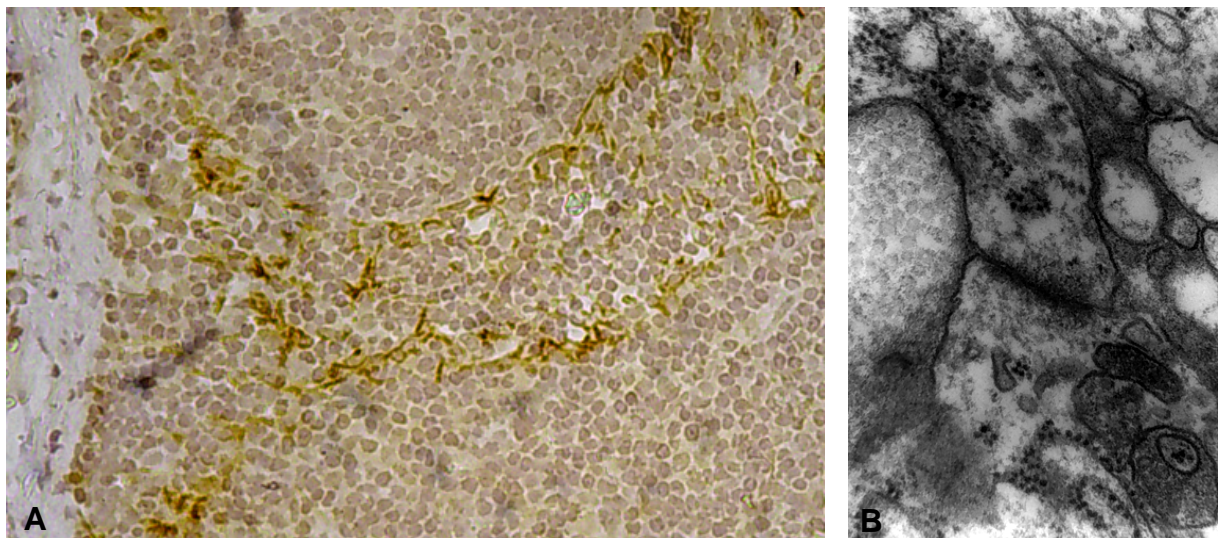


Abb. 3: A. Menschlicher Lymphknoten. Der Verlauf des Lymphsinus ist anhand des markierten Desmoplakins, das als Zellhafte zwischen den einzelnen retothelialen Zellen fungiert, gut zu verfolgen. Färb.: Desmoplakin Multi-Epitope-Cocktail / ABC, Vergr.: 20x. B. Desmosom zwischen zwei retothelialen Zellen. EM., Vergr.: 50000x.

In der Elektronenmikroskopie lassen sich Syndesmosen, die die Zellausläufer retothelialer Zellen des Lymphknotensinus miteinander verbinden, deutlich abgrenzen (Abb. 3B). In humanen, paraffinfixierten Lymphknoten gelingt es mit der Immunhistochemie, unter Verwendung eines gegen Desmoplakin gerichteten Multi-Epitop-Cocktails, das Netzwerk der retothelialen Zellen im Lymphknotensinus darzustellen (Abb. 3A).

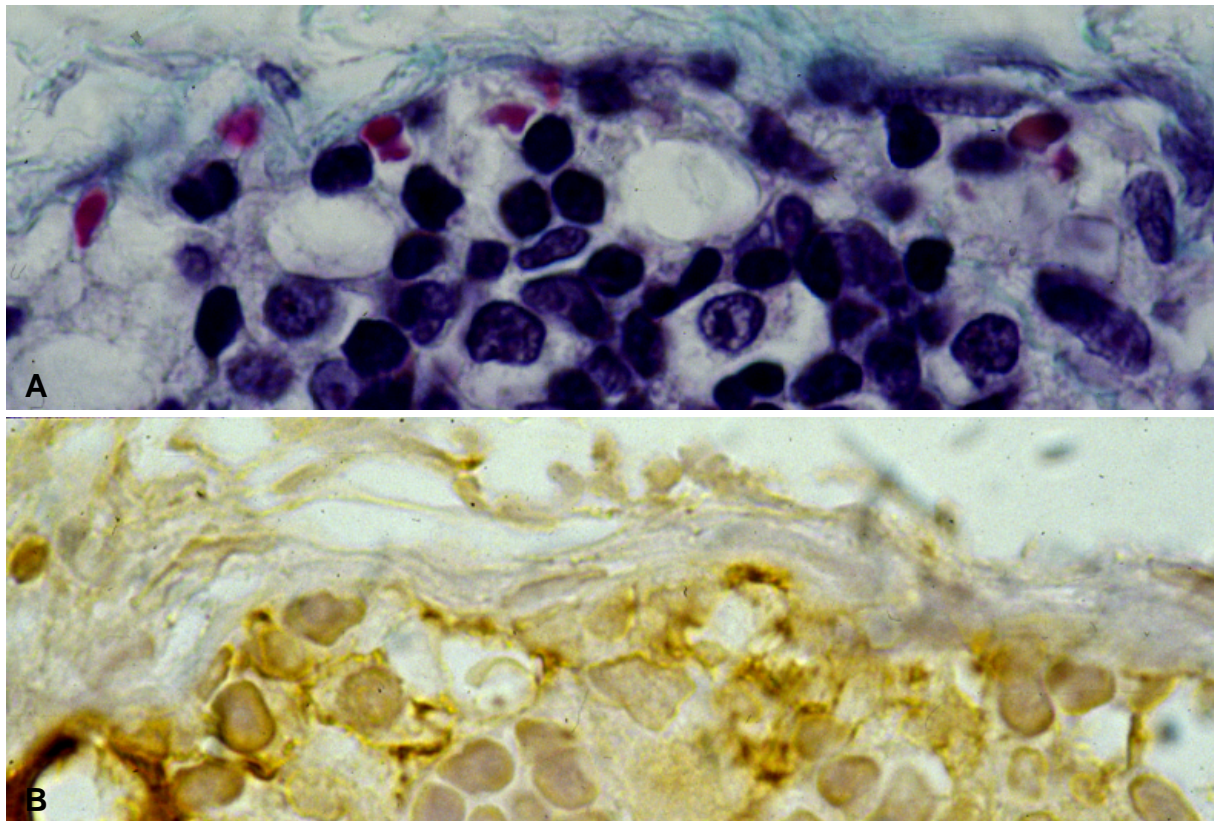


Abb. 4: A. Erythrozyten innerhalb des Lymphknotensinus. Tiefer cervikaler Lymphknoten, links, 24 h post trauma, Färb.: Goldner, Vergr.: 100x. B. Gleicher Bildausschnitt, jedoch mit Detektion der Desmoplakin enthaltenden Zellhaften zwischen den rethelialen Zellen, die den Lymphknotensinus ausspannen. Tiefer cervikaler Lymphknoten, links, 24 h post trauma, Färb.: Desmoplakin / ABC, Vergr.: 100x.

In den ebenfalls in Paraffin eingebetteten Rattenlymphknoten lassen sich nur wenige Complexus adherentes anfärben, so daß das Ergebnis im Vergleich mit dem vom Menschen stammenden Gewebe eher unbefriedigend ausfällt (Abb. 4A/B).

#### 2.2.5.2. Aktin ( $\alpha$ -smooth muscle actin)

Dieser Antikörper wird unter Verwendung eines synthetischen, an Hemocyanin gekoppelten  $\text{NH}_2$  terminalen Decapeptid der  $\alpha$ -Isoform des Aktins als Immunogen hergestellt und detektiert diese spezifisch. SKALLI ET AL. (1986) beschreiben in ihrer Untersuchung, daß der so erzeugte neue monoklonale Antikörper das Aktin der Aorta, dagegen aber nicht das Aktin von Fibroblasten, von quergestreifter Muskulatur und von Myokard zur Darstellung bringt. Die Anfärbung der Aorta von Mensch oder Ratte mit Anti- $\alpha$ -smooth muscle actin zeigte eine positive Reaktion in der Media und in diversen Vasa vasorum, jedoch nicht in Adventitia oder Endothelium.

Wir verwendeten den Antikörper zur sicheren Differenzierung zwischen den Blutgefäßen des Lymphknotens und den in diesem Fall ebenfalls Erythrozyten führenden Lymphsinus.

### 2.2.6. Phagozytose und Degradation von Erythrozyten im Lymphknoten

In normalen Lymphknoten sind unter physiologischen Verhältnissen stets einzelne Erythrozyten zu finden (RAVIOLA, 1994). Nicht nur diese, sondern auch die meisten roten Blutzellen, die aus einer forcierten Erythrozytendrainage stammen, werden von Sinusmakrophagen an sich gebunden und phagozytiert.

#### 2.2.6.1. Aufnahme und Abbau von Erythrozyten in Makrophagen

Die ersten ausführlichen Untersuchungen der Phagozytose in Lymphknoten wurden von KETTLER (1936) und MASSHOFF (1947) jeweils nach subkutaner Injektion von Vollblut durchgeführt. Beide fanden frühestens nach 4 Tagen Siderin in den Lymphknoten. OEHMICHEN ET AL. (1980, 1982) beschäftigten sich in mehreren Studien mit dem Phagozytoseverhalten von mononukleären Zellen in Lymphknoten des Kaninchens. Sie konnten bereits eine Stunde nach intrasinusoidaler Injektion ein Anhaften von Erythrozyten an Makrophagen und zum Teil auch schon Phagozytose beobachten. Nach 12 Stunden waren nahezu alle Erythrozyten phagozytiert und die Lymphknotensinus wieder frei von roten Blutzellen. Siderin konnte nach 9-12 Stunden in Makrophagen ausgemacht werden. Nach 24 Stunden waren die Siderin-Granula bereits grob granuliert. Es wurde angenommen, daß dem forcierten Phagozytoseverhalten ein bestimmter Mechanismus zugrundeliegen mußte. In einer weiteren Untersuchung der gleichen Arbeitsgruppe wurde eine Stimulation der Phagozytose durch humorale Faktoren oder Opsonisierung innerhalb des Lymphserums durch In-vitro-Versuche ausgeschlossen. Des weiteren wurden In-vivo-Versuche mit athymischen Ratten durchgeführt, bei denen eine Induktion durch T-Zellen verhindert worden wäre, wenn denn eine existiert hätte.

Die Ursache für die schnelle Phagozytose von Erythrozyten in den Lymphknotensinus scheint mit der Existenz von Phosphatidylserinen auf der Oberfläche von Erythrozyten zusammenzuhängen (SCHROIT ET AL., 1984). Phosphatidylserine befinden sich unter normalen

Umständen ausschließlich in den inneren Schichten der Erythrozytenmembran, so daß eine Beschädigung oder Alterung der Membran die Voraussetzung für eine Erkennung von Phosphatidylserinen auf der Oberfläche von Erythrozyten durch Makrophagen darstellt. Dies muß jedoch nicht der einzige Mechanismus sein, der Makrophagen dazu bringt, körpereigene Zellen -in diesem Falle Erythrozyten- plötzlich als körperfremd zu erkennen und zu phagozytieren.

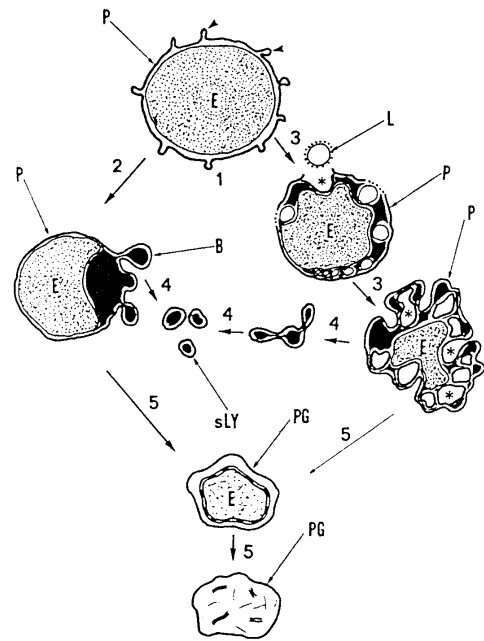
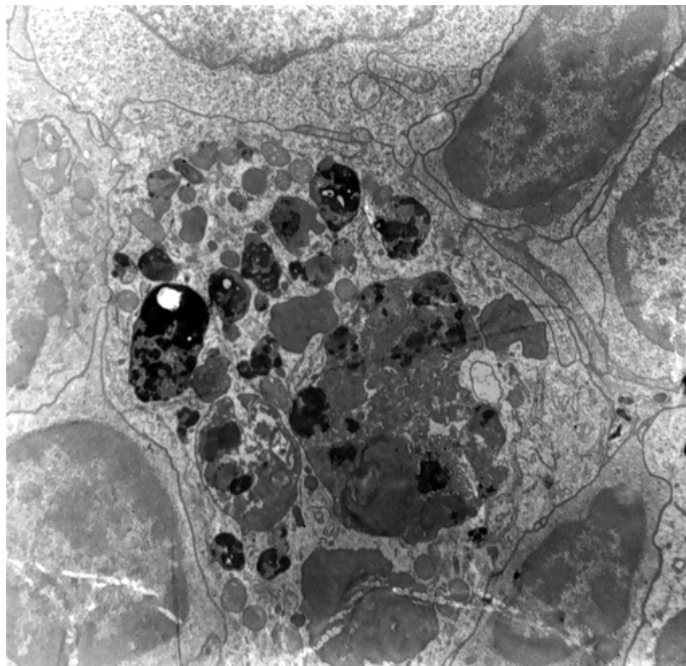


Abb. 5: Lysomaler Abbau von Erythrozyten in einem Sinusmakrophagen. Tiefer cervikaler Lymphknoten, links. EM., Vergr.: 7000x. Fig. 13: Schematische Darstellung der Erythrophagozytose. Nachdem ein Erythrozyt in einen Phagosomen eingeschlossen wurde, beginnt dieser über zwei Wege, nämlich "bleb formation" (2) und "invagination" (3), den Erythrozyten zu verdauen. Zum Schluß bleibt die sogenannte "ghost formation" (5), in der die Erythrozytenmembran und Residualmaterial verbleiben, übrig. (P) Phagosom, (E) phagozytierter Erythrozyt, (PG) "phagosomal ghost", (sLy) sekundäre Lysosomen, (B) "blebs" = Bläschen, (L) Lipidgranula, (kleine Pfeile) "minute vesicles", (Sterne) Invaginationen (SASAKI, 1993).

Die Erythrophagozytose innerhalb der Sinusmakrophagen wird in einer Arbeit von SASAKI (1993) mit Hilfe der Elektronenmikroskopie und der Gefrierbruch-Technik eindrucksvoll geschildert. Von Makrophagen phagozytierte Erythrozyten werden durch zwei parallel, unabhängig voneinander ablaufender Mechanismen (Abb. 5 & Fig. 13) abgebaut. Sammelt sich zwischen der Membran des Phagosomen und der des phagozytierten Erythrozyten verdautes Zytoplasma an, wird der Weg der *bleb formation* eingeschlagen. Der Phagosom beginnt damit, seine Bestandteile als sekundäre Lysosomen in Form von Bläschen abzuschneiden, um dann später als *phagosomal ghost* zu enden. Bei der *invagination*, dem zweiten Mechanismus der Erythrozytendegradation, bilden sich unter der Phagosomenmembran Lipidgranula, die dann in das Makrophagenzytoplasma freigesetzt

werden. Zurück bleiben zahlreiche mit Zytoplasma gefüllte Lücken im Phagosomen (daher die Bezeichnung *invagination*), dessen Rest dann ebenfalls zu sekundären Lysosomen zerfällt und als *phagosomal ghost* endet. Dieser ist durch die gänzlich verlorengegangene Dichte und Erythrozytenstruktur charakterisiert.

### 2.2.6.2. Darstellung der Makrophagenlysosomen mit ED 1

Von ED 1 als Antigen erkannte Strukturen lassen sich auf der Membran zytoplasmatischer Granula, wie zum Beispiel Phagolysosomen von Rattenmakrophagen, nachweisen. In geringem Maße lassen sie sich auch auf der Zelloberfläche nachweisen, was jedoch nur auf ultrastruktureller Ebene eine Rolle spielt. Diese Strukturen sind schwere, glykosylierte Proteine von 90000-110000 MW, abhängig davon, welcher Zelltyp als Antigenquelle genutzt wurde. Der Klon ED 1 wurde aus BALB/c Mäusen, die hierfür mit Rattenmilzzellen immunisiert wurden, gewonnen. Diese Rattenmilzzellen wurden zuvor mit Zellen der Sp2/0-Ag 14 Mäusemyelomzelllinie fusioniert.

Die Menge von detektierten ED 1 korreliert mit der Phagozytoseaktivität der jeweiligen Zellen. ED 1 wird besonders intensiv von Makrophagen exprimiert, die reichlich phagozytieren und deshalb auch stärker glykosyliert sind (DAMOISEAUX ET AL., 1994). Zunächst bestand die Aufgabe des Antikörpers ED 1 in der vorliegenden Untersuchung darin, die eifrige Phagozytoseaktivität der Sinusmakrophagen in den mit Erythrozyten gefüllten Lymphsinus zu verifizieren. Zusätzlich wurde versucht, die Phagozytoseintensität von Sinusmakrophagen, die mit Erythrozyten konfrontiert sind, mit der von Sinusmakrophagen, die nicht von einer Erythrozytendrainage betroffen sind, zu vergleichen.

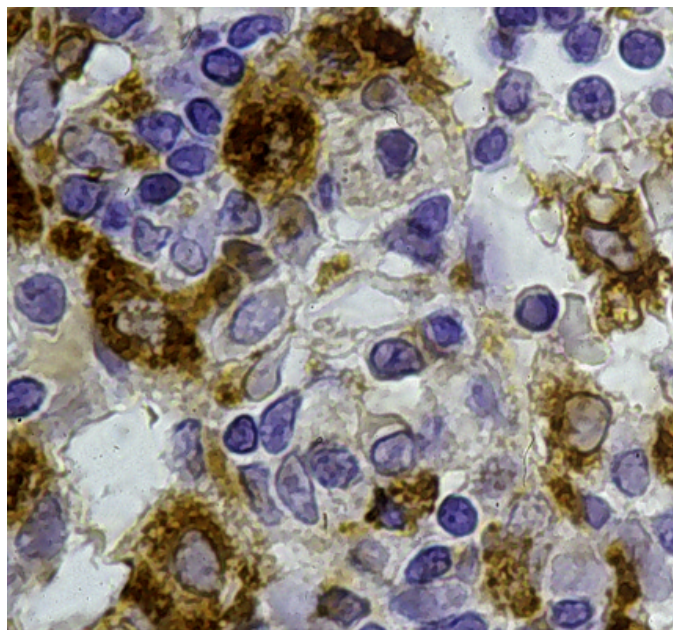


Abb. 6: ED 1 - positive Sinusmakrophagen mit reger Phagozytoseaktivität. Tiefer cervikaler Lymphknoten, links, 24 h post trauma, Färb.: ED 1 / ABC, Vergr.: 100x.

## 2.3. DAS SCHÄDELHIRNTRAUMA

### 2.3.1. Die Problematik des Schädelhirntraumas in der Klinik

Die Problematik, bei einer großen Anzahl zu behandelnder verunfallter Patienten auf nur unzureichende Therapierichtlinien zurückgreifen zu können, bewog die National Academy of Science, folgenden Wortlaut in einem Bericht von 1985 zu veröffentlichen: "Das Trauma ist das am meisten unterschätzte öffentliche Gesundheitsproblem. Seine Erforschung bietet ungeahnte Möglichkeiten zur Verringerung von Morbidität und Mortalität mit der Aussicht, durch moderate Investitionen erhebliche Verbesserungen zu erzielen." Der Mangel an Therapierichtlinien betrifft ebenfalls die Behandlung von Schädel-Hirn-Traumen.

Da der zerebrale Primärschaden therapeutisch nicht beeinflussbar ist, besteht die Verbesserung der Therapierichtlinien vorwiegend in der Optimierung der Therapie und damit in der Reduktion des zerebralen Sekundärschadens. Dieser Sekundärschaden ist vorwiegend durch sekundäre Komplikationen (z.B. Hypoxie, Hypotension) und einer pathophysiologischen Kaskade (Freisetzung von Mediatorsubstanzen: z.B. Glutamat, freie Radikale) bedingt, die zum posttraumatischen Zelluntergang führen (THOMALE, 2000, VON ELTZ, 1999). Um diese Vorgänge in Zukunft therapeutisch beeinflussen zu können, besteht in der experimentellen Neurotraumatologie eine große Motivation, potentiell neuroprotektive Substanzen in experimentellen Schädelhirntraumen zu erproben und ihre Wirkung zu verifizieren.

### 2.3.2. Das experimentelle Schädelhirntrauma

Mit dem Ziel, die Pathologie eines Schädelhirntraumas und seine biomechanischen und neurologischen Konsequenzen besser studieren zu können, entwickelten verschiedene Forschungsgruppen Tiermodelle, die eine mechanische Hirnverletzung reproduzieren.

MARMAROU (1994) und seine Mitarbeiter stellten ein Tiermodell für ein geschlossenes Schädelhirntrauma vor. Das sogenannte *Weight Drop*-Modell besteht aus einem über eine Plexiglasschiene geführten Gewicht, das aus einer definierten Höhe mit Erdbeschleunigung auf den Schädel einschlägt. Der Versuchsaufbau ist so angeordnet, daß eine Schädelfraktur



verhindert und stattdessen eine diffuse Schädigung des Hirngewebes verursacht wird. Das *Weight Drop*-Modell imitiert vorwiegend den diffusen Axonschaden und die Subarachnoidalblutung, welche nur Teilaspekte des SHT darstellen. Da bei diesem Modell der Aspekt der diffusen Hirnschädigung im Mittelpunkt steht und eine fokale Kontusion nicht nachweisbar ist, fällt der direkte Vergleich mit dem CCII schwer.

Die bisher am weitesten verbreitete Methode ist das *Fluid percussion*-Modell, bei dem durch schnelle Flüssigkeitsinjektion in den geschlossenen Hirnschädel ein Hirntrauma erzeugt wird (DIXON ET AL., 1987). Zwei wesentliche Nachteile des *Fluid percussion*-Modells brachten die Arbeitsgruppe um DIXON (1991) auf einen neuen Weg. Zum Ersten gestaltete es sich schwierig, mit indirekten Parametern der mechanischen Hirnschädelfüllung eine genaue Analyse der biomechanischen Eigenschaften zu erlangen. Zum Zweiten verursachte das *Fluid percussion*-Modell unter stärkerer Krafteinwirkung eher eine Hirnstammschädigung und damit völlig andere histopathologische Veränderungen als die im klinischen Alltag vorwiegend im Mittelpunkt stehende kortikale Schädigung.

Erstmals beschreibt LIGHTHALL (1988) in seiner Arbeit das *Controlled cortical impact*-Modell, welches dann 1991 ausgiebig von DIXON ET AL. an der Ratte studiert wurde und an dem sich auch der Tierversuch der vorliegenden Untersuchung orientiert. Bei dieser Methode wird nach vorsichtiger Trepanation ein computergesteuerter, pneumatisch antriebener Bolzen auf die intakte Dura appliziert. Dabei sind Kraft, Geschwindigkeit, Eindringtiefe und Größe des Bolzens genau definiert, so daß ein unkontrolliertes Fortschreiten der primären Schädigung, wie es beim *Fluid percussion*-Modell vorkommt, wesentlich unwahrscheinlicher wird. Die Traumagröße läßt sich besser kontrollieren und reproduzieren, was zur Folge hat, daß die Entwicklung sekundärer Schäden (zum Beispiel bei der Untersuchung der Medikamentenwirksamkeit bei posttraumatischem Spätödem) besser studiert und von primären Veränderungen abgegrenzt werden kann.

In der vorliegenden Untersuchung haben wir uns die oben geschilderte Konstanz und Reproduzierbarkeit des primären Traumas, insbesondere die regelhafte Entstehung einer Subarachnoidalblutung, zunutze gemacht