

(Aus der Hirnhistologischen Abteilung der Psychiatrisch-neurologischen
Universitätsklinik zu Budapest [Vorstand: Prof. *Karl Schaffer*].)

Das erste Erscheinen und die Urformen der Hortegaschen Mikroglia im Zentralnervensystem¹.

Von
Adolf Juba.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. April 1934.)

v. Sántha und *Juba* haben in einer gemeinsamen Arbeit die Mikrogliaentwicklung bis zum ersten Erscheinen der *Hortega*-Zellen im Zentralnervensystem zurückverfolgt. Es stellte sich heraus, daß in den noch gefäßlosen Gehirnen keine *Hortega*-Zellen zu finden sind; die ersten derartigen Elemente erscheinen an derjenigen Stelle des Gehirns, wo auch die ersten Capillaren auftreten: im Diencephalon des Rattenembryo von 15 mg Körpergewicht. Mit anderen Worten: die Mikrogliaentwicklung verläuft dem Fortschreiten der Vaskularisation des Gehirns zeitlich und örtlich parallel, das Erscheinen der *Hortega*-Elemente im Gehirn hängt innig mit den Capillaren zusammen. Befunde aber, die eine Entscheidung der Frage der Cytogenese ermöglicht hätten, insbesondere ob die Mikrogliazellen Gefäßwandelemente, adventitielle Zellen, neben den Capillaren eingewanderte Mesenchymzellen der Meningen, oder aus den Capillaren herausgewanderte Blutelemente sind, wurden von den Autoren nicht erhoben.

Bei anderen Untersuchungen² fand ich in Gehirnen von Menschen- und Schweineembryonen in frühen embryonalen Perioden abgerundete polygonale Elemente von elektiver Imprägnation in der freien Hirnsubstanz, welche den embryonalen Blutelementen höchst ähnlich erschienen und als aus den Capillaren in die Gehirnssubstanz herausgetretene Blutelemente aufgefaßt wurden. Auf den zwischen diesen Elementen und den Mikrogliazellen bestehenden Zusammenhang weisen vielgestaltige Übergangsformen (Zellen mit beginnender Fortsatzbildung und mit aufgelockertem Zellkörper) hin, so daß von den abgerundeten Elementen bis zu den ausgereiften Mikrogliazellen eine ununterbrochene Kette von Übergangsstadien führt. Da sie außerdem bei den jungen Embryonen — zumeist in Form von aus abgerundeten polygonalen Elementen, Übergangsformen und Mikrogliazellen zusammengesetzten Zellherden — am zahlreichsten angetroffen werden und ihre Zahl mit dem Fortschreiten der Entwicklung immer mehr abnimmt, so haben wir diese hämatogenen Elemente als die Urformen der Mikrogliazellen im Zentralnervensystem

¹ Herrn Prof. *Karl Schaffer* zum 70. Geburtstage.

² Arch. f. Psychiatr. 101 (1933). — Z. Anat. Im Erscheinen.

aufgefaßt; damit wurde also die mesodermal-hämatogene Herkunft der *Hortega*-Glia angenommen.

Im Laufe dieser Untersuchungen haben wir aber die Mikrogliaentwicklung nicht bis zum ersten Erscheinen der *Hortega*-Elemente im Gehirn zurückverfolgen können, obwohl es von großer Bedeutung gewesen wäre, das erste Erscheinen der Mikroglia und die Vaskularisationsverhältnisse des Gehirns im Zeitpunkte des Erscheinens zu untersuchen und die Möglichkeit einer hämatogenen Herkunft auch in den frühesten Stadien der Entwicklung festzustellen. Dies haben wir in den vorliegenden, an *Hühnerembryonen* durchgeführten Untersuchungen nachgeprüft.

Die Mikrogliaentwicklung des Huhnes hat bereits *Belezky* studiert. Mit seinem Gelatineverfahren hat er beim 4 Tage lang bebrüteten Embryo in dem das Nervengewebe umhüllenden Mesenchym, also extracerebral große Zellen mit groben Fortsätzen gefunden, im Zentralnervensystem nur Abkömmlinge des primären Nervenrohres, keine anderen Zellen. Beim 6 und 8 Tage lang bebrüteten Embryo nimmt die Zahl der extracerebralen verzweigten Zellen, welche von *Belezky* als Histio-cyten aufgefaßt werden, immer mehr zu; beim 8 Tage lang bebrüteten Embryo „lassen sich solche Fortsatzzellen, und zwar sehr große, aber mit feineren Fortsätzen, auch schon im Großhirn und im Rückenmark nachweisen“. Später vermehren sich die extracerebralen Histio-cyten, sie werden in den Blutbildungsherden nebst Übergangsformen zu den primitiven Elementen angetroffen. „Im Parenchym des Zentralnervensystems nimmt die Zahl der Fortsatzzellen bis zum Augenblick des Auskriechens aus dem Ei allmählich zu. Ihre Umrisse sind sehr mannigfaltig. Sie bilden Gruppen, wobei ihre Herde mit den Gefäßen zusammenhängen.“ Weiteres wird aber über diese Herde nicht angegeben. Nach *Belezky* entwickelt sich die Mesoglia (nach ihm Mikro- und Oligodendroglia) auf dem Wege einer Einwanderung dieser Zellen aus dem Plexus chorioideus und aus den Meningen längs der Pia-gefäße. Die von uns bei den Menschen- und Schweineembryonen vorgefundenen abgerundeten polygonalen hämatogenen Zellen, welche die primitivsten Formen der *Hortega*-Glia im Gehirn sind, werden von *Belezky* nicht erwähnt. Der Zeitpunkt des Erscheinens der Mikroglia im Gehirn wird auf den 8. Bebrütungstag festgelegt.

Unser Material besteht aus 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 13 Tage lang bebrüteten Hühnerembryonen, welche zum Teil in halbverdünntem Formol, zum Teil in Bromformalin fixiert wurden. Beim Anfertigen der Lösungen haben wir entweder auf Kreide angesetztes Formalin *Schering* oder *Mercksches* Formaldehyd solutus — dieses ohne jede Vorbehandlung — verwendet. Bei den Embryonen von 3–10 Tagen wurde der ganze Kopfteil in der horizontalen Ebene, bei dem 13 Tage lang bebrüteten Embryo das vorher herausgenommene Gehirn in der frontalen Ebene geschnitten. Imprägnation der 30–50 mm dicken Gefrierschnitte nach *Kanzler*. Die Einzelheiten dieses Mikrogliaarstellungsverfahrens sind im Originalbericht, sowie in unseren früheren Mikrogliaarbeiten vorzufinden. Hier möchten wir nur so viel erwähnen, daß uns die *Kanzlersche* Methode als die geeignetste für die Darstellung der *Hortega*-Zellen in frühembryonalen Perioden erscheint; mit dem *Hortegaschen* Mikroglia-

verfahren haben wir bei jungen Früchten fast nie befriedigende Resultate erzielen können. Bei älteren Embryonen wird aber das nach *Kanzler* gewonnene Imprägnationsbild durch die Mitfärbung von zelligen Elementen nicht mikroglöser Natur sowie durch inkomplette Imprägnation gestört.

Im folgenden berichten wir kurz über die histologischen Befunde der einzelnen Embryonen.

Beim *3 Tage lang bebrüteten Embryo* (Formalinfixierung, *Kanzlersche* Imprägnation) sind in dem blasenartig dünnen Zentralnervensystem weder *Hortega-Zellen*, noch Capillaren zu finden; das Gehirn ist völlig unvascularisiert. Im extracerebralen Bindegewebe ebenfalls keine extracerebralen Mikrogliazellen.

4 Tage lang bebrüteter Embryo. Fixierung in toto im halbverdünnten Formol und in Bromformalin. Horizontale Gefrierschnitte des Kopfes nach *Kanzler* imprägniert. Erste Spuren der Vascularisation: im noch völlig lamellenartigen Diencephalon und in dem besser entwickelten Rhombencephalon dringen aus den reich gefäßhaltigen Anlagen der Meningen einzelne Capillaren ein, welche oft ziemlich prall mit embryonalen Blutelementen gefüllt sind. Solche Blutelemente werden aber im Diencephalon auch extravasal, im freien Hirnparenchym angetroffen. Sie entsprechen ganz den intravasalen Blutzellen, und erscheinen entweder in der nächsten Umgebung der Gefäße, oder weiter entfernt von ihnen in das Nervengewebe eingelagert. Seltener werden von ihnen kleine Zellherde gebildet (Abb. 1); der Raum des Zellkerns bleibt zumeist in Form eines helleren Fleckes frei. Im Rhombencephalon selten einige wahrscheinlich im freien Hirnparenchym liegende Blutelemente. Die telencephalischen Abschnitte des Gehirns gefäßlos, hier keine abgerundeten Elemente im Nervengewebe.

Das extracerebrale Bindegewebe enthält in großer Zahl außer den Capillaren liegende Blutelemente von abgerundeter Form.

5 Tage lang bebrüteter Embryo. Formalinfixierung, sonst übliche Behandlung. Diencephalon bis zur telencephalen Grenze dürtig vascularisiert. Neben den bereits bekannten ganz abgerundeten extravasalen Blutelementen werden ganz selten auch grobverzweigte Formen (Abb. 2) angetroffen, welche, obwohl sie noch das Gepräge der abgerundeten Elemente an sich führen, bereits an die primitiven Mikrogliazellen erinnern. Sie können sich auch an Capillaren anschmiegen. Diese verzweigten Formen sind jedoch selten zu sehen, im Diencephalon herrschen die abgerundeten, frei im Hirnparenchym liegenden Elemente vor, welche oft größere Zellherde im Nervengewebe bilden. Im Telencephalon keine Gefäße, keine abgerundeten oder verzweigten Elemente. Rhombencephalon dürtig vascularisiert, selten einzelne extravasale Blutelemente, manchmal mit der Andeutung einer Auflockerung des Zellkörpers.

Im extracerebralen Bindegewebe lassen sich neben den beim vorigen Stadium erwähnten abgerundeten Formen auch gutverzweigte extracerebrale Mikrogliazellen feststellen.

6 Tage lang bebrüteter Embryo. Formalinfixierung, im weiteren die übliche Behandlung. Das Diencephalon hat sich erheblich vergrößert, reiche Vascularisation. Viele extravasale abgerundete, zum Teil auch polygonale Blutelemente, welche sich oft in Zellherden versammeln. In ihrem Körper ist oft die Stelle des Zellkerns in Form eines hellen Fleckes zu erkennen. Endlich haben wir auch eine gut erkennbare Mikrogliazelle vorgefunden. Erste Spuren des Ganglienhügels, bereits vascularisiert. Telencephalon übrigens gefäßlos, keine abgerundeten oder verzweigten Elemente. Rhombencephalon gut vascularisiert, abgerundete Elemente herdförmig verstreut.

Im Bindegewebe des Kopfes oft verzweigte extracerebrale Mikrogliazellen wie auch abgerundete Formen.

7 Tage lang bebrüteter Embryo. Fixierung in Formalin, sonst übliche Behandlung. Das Diencephalon enthält sehr zahlreiche abgerundete polygonale Elemente; neben

ihnen auch solche mit beginnender Fortsatzbildung, also Übergangsformen, außerdem auch differenziertere Mikrogliazellen. Die reichlichen polygonalen Elemente

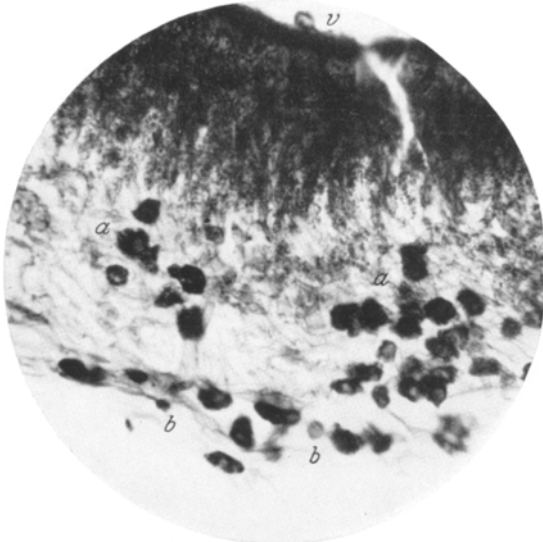


Abb. 1. Diencephalischer Abschnitt des 4 Tage lang bebrüteten Embryos. *a* Extravasale Blutelemente in der freien Hirnsubstanz liegend. *b* Capillare der Meninx sich dem Diencephalon anschließend, in ihr embryonale Blutelemente. *v* Ventrikel. Mikrophotogramm. Vergr. 590 \times .

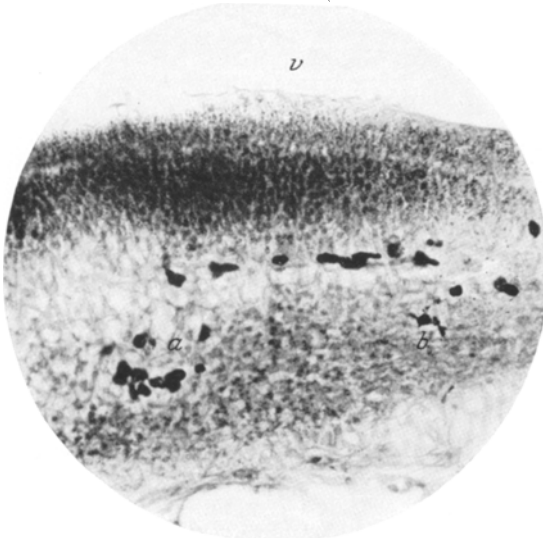


Abb. 2. Diencephalischer Abschnitt des 5 Tage lang bebrüteten Embryos. *a* Aus extravasalen Blutelementen bestehender kleiner Zellherd. *b* Grobverzweigtes *Hortega*-Element. *v* Ventrikel. Mikrophotogramm. Vergr. 260 \times .

sind oft in Zellherden angeordnet. Außerdem werden verstreut differenziertere *Hortega*-Zellen angetroffen. Der Ganglien Hügel enthält ebenfalls reichlich die extra-

vasalen Blutelemente, oft herdförmig rings um die Capillaren gruppiert. Ganz selten plumpe verzweigte Exemplare. Die vordere Wandung des Telencephalons

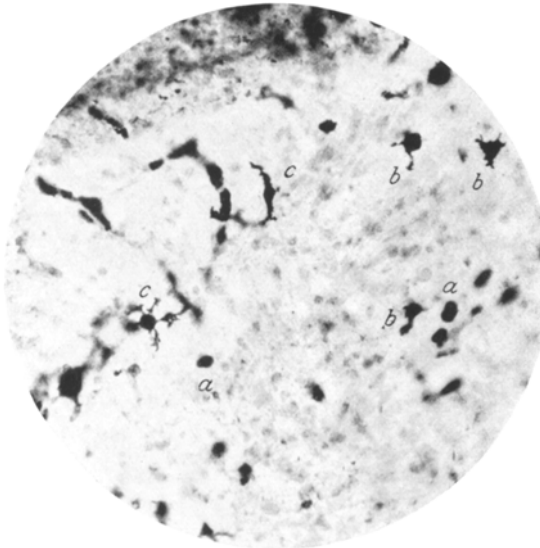


Abb. 3. Rhombencephalischer Abschnitt des 8 Tage lang bebrüteten Embryos. *a* Abgerundete Elemente. *b* Übergangsformen. *c* Differenziertere Mikrogliazellen. Mikrophotogramm. Vergr. wie Abb. 2.

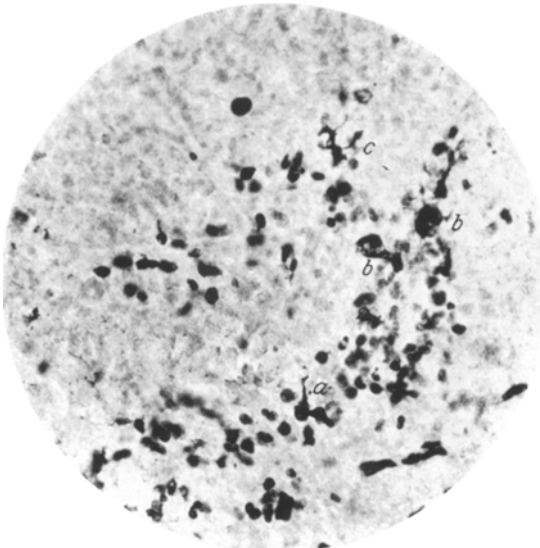


Abb. 4. Zellherd aus dem Rhombencephalon des 8 Tage lang bebrüteten Embryos. Viele abgerundete polygonale Elemente. *a* Abgerundete Elemente mit beginnender Fortsatzbildung. *b* Übergangsformen mit wabigem Zellkörper. *c* Mikrogliazelle. Mikrophotogramm. Vergr. wie Abb. 2.

vascularisiert, in ihr einige abgerundete polygonale Elemente. Mediale Wand ganz dürrig an einigen Stellen mit Gefäßen versehen; einmal sahen wir ein ganz primitives

Exemplar mit feinen Fortsätzen. Rhombencephalon enthält einige abgerundete, höchst selten plump verzweigte *Hortega*-Elemente.

8 Tage lang bebrüteter Embryo. Fixierung in Bromformalin, im weiteren die übliche Behandlung. Das Diencephalon enthält reichlich abgerundete polygonale Elemente, außerdem auch Übergangsformen und Mikrogliazellen. Von den zahlreichen extravasalen Blutelementen werden oft große Zellherde gebildet, sie können Capillaren einhüllen. Im Ganglienhügel dasselbe Bild, nur weniger verzweigte Formen. In der vorderen Wand des Telencephalons ebenfalls abgerundete polygonale Elemente. Im Rhombencephalon bereits differenziertere *Hortega*-Zellen mit einem runden Zellkörper (Abb. 3). Mehrere Zellherde (Abb. 4) mit primitiven fortsatzlosen Formen und verschiedenen Phasen der Formentwicklung. Unter der Fossa rhomboidea einige ganz massive Zellherde von ähnlicher Zusammensetzung; doch dominieren hier die abgerundeten Elemente, welche ganz dicht gedrängt sind und sich nur grau anfärben.

Da uns nur die Mikrogliaentwicklung der allerfrühesten embryonalen Perioden interessierte, haben wir die Mikrogliaentwicklung in den älteren Früchten weiter nicht systematisch verfolgt. Beim 10 Tage lang bebrüteten Embryo haben wir nur inkomplette Imprägnationen (*Kanzler*) erzielen können. Trotzdem haben wir im oralen Abschnitt des Diencephalons, im Ganglienhügel, Mesencephalon und Rhombencephalon die abgerundeten polygonalen Elemente, seltener auch Übergangsformen und plumpe Mikrogliazellen angetroffen. Einzelne Spongioblasten erscheinen ebenfalls schwarz imprägniert. In der gefäßlosen Lamina chorioidea epithelialis des Seitenventrikels sind öfter Mikrogliazellen zu sehen, solche kommen auch im Stroma des Plexus chorioideus vor. Die Präparate des 13 Tage lang bebrüteten Embryos sind ebenfalls nicht komplett, doch haben wir in den Stammganglien oft verzweigte *Hortega*-Elemente gesehen. Wir begegneten auch einem größeren Zellherde, welcher aber nur einzelne abgerundete Elemente enthielt, die Mehrzahl der Zellen bestand aus verschiedenen Entwicklungsstadien der verzweigten *Hortega*-Zellen. In der Medullaranlage der Rinde reichlich amöboide Formen mit wabigem Zellkörper.

Aus den eben beschriebenen histologischen Befunden geht also hervor, daß im unvascularisierten Nervensystem (Embryo von 3tägiger Bebrütung) keine *Hortega*-Elemente zu finden sind. Die ersten Capillaren werden im diencephalen und rhombencephalen Abschnitt des Gehirns des 4 Tage lang bebrüteten Embryos angetroffen. In diesem Stadium erscheinen im freien Hirnparenchym an denselben Stellen, besonders aber im Diencephalon, die abgerundeten polygonalen Elemente, welche als aus den Gefäßen in die freie Hirnsubstanz gelangte Blutelemente zu betrachten sind. Beim 5 Tage lang bebrüteten Embryo nimmt die Zahl der extravasal liegenden Blutelemente zu; zwischen ihnen kommen auch plump verzweigte Formen vor. Besonders zahlreich werden sie im Diencephalon des 7 Tage lang bebrüteten Embryos — oft herdförmig gruppiert — gefunden, neben ihnen auch gut differenzierte Mikrogliazellen, welche mit den abgerundeten polygonalen extravasalen Blutelementen durch eine ununterbrochene Kette der Übergangsformen verbunden sind. Die Übergangsformen sind Zellen mit abgerundetem oder polygonalem Zellkörper, aus welchem aber einige plumpe Fortsätze hervorragen; mit dem Fortschreiten der Differenzierung werden die Fortsätze immer feiner und verzweigter, der Zellkörper verkleinert sich oder nimmt eine wabige Struktur an. Die verschiedenen Stadien der

Formentwicklung lassen sich besonders im Di- und Rhombencephalon des 8 Tage lang bebrüteten Embryo schön beobachten, oft kommen hier auch die aus ihnen zusammengesetzten Zellherde vor. In den telencephalen Abschnitten bleibt die Mikrogliaentwicklung im Vergleich zu der des Di- und Rhombencephalons zurück, dies hängt höchstwahrscheinlich mit der später erscheinenden Vascularisation zusammen. Beim 10 Tage lang bebrüteten Embryo sind Mikrogliazellen auch zwischen den Epithelzellen der Lamina chorioidea epithelialis zu finden. Beim 13 Tage lang bebrüteten Embryo scheinen die undifferenzierten runden Formen der *Hortega*-Zellen seltener vorzukommen, dagegen erscheinen in der Medullaranlage der Rinde bis zur inneren Kapsel zahlreiche amöboide *Hortega*-Zellen mit wabigem Körper und kurzen Fortsätzen.

Nach den vorliegenden Untersuchungen sind also die Urformen der *Hortega*-Glia im Gehirn abgerundete polygonale, in die freie Hirnsubstanz herausgewanderte Blutelemente, welche parallel mit den ersten Capillaren in diencephalen und höchstwahrscheinlich auch in rhombencephalen Hirnabschnitten am 4. Tage der Bebrütung erscheinen und sich in Übergangsformen, dann in gutverzweigte Mikrogliazellen umwandeln. Welcher embryonalen Zellart der Blutelemente die Urformen der Mikroglia zugehören, können wir auf Grund der Imprägnationspräparate nicht entscheiden. Nach den experimentellen Untersuchungen (*Costero, Mihalik*) kommen hier vor allem Makrophagelemente in Betracht. Ob sich sämtliche abgerundete polygonale Elemente, welche sehr zahlreich im Hirnparenchym liegen, während des späteren Verlaufs der Entwicklung in Mikrogliazellen umwandeln, oder ein Teil derselben eine Rückbildung erleidet bzw. wieder in die Blutbahn zurückgelangt, mag ebenfalls dahingestellt bleiben. Es besteht ein deutlicher Parallelismus zwischen Mikrogliaentwicklung und dem Vorschreiten der Vascularisation des Gehirns: vor dem Erscheinen der Gefäße im Zentralnervensystem hier auch keine *Hortega*-Elemente. Die ersten Urformen derselben treten im selben Zeitpunkt (4. Tag der Bebrütung) und an derselben Stelle (Diencephalon) im Gehirn auf. Dieser strenge Parallelismus läßt sich leicht verstehen, wenn wir bedenken, daß die Urformen der Mikroglia embryonale Blutelemente sind, welche nur aus den Hirngefäßen in die Hirnsubstanz gelangen können. Ohne vorausgehende Vascularisation werden die Mikrogliazellen nur in einem Hirnabschnitt des Huhnes angetroffen: dies ist die Lamina chorioidea epithelialis, welche als eine stark modifizierte Hirnlamelle zu betrachten ist und selbständige Gefäße niemals enthält. Hier ist eine Einwanderung aus dem reichen Gefäßgeflecht des Plexus chorioideus anzunehmen.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen werden also die von mir an embryonalem Menschen- und Schweinematerial gemachten Beobachtungen vollkommen bestätigt und die aus dem erwähnten Material gewonnenen Schlußfolgerungen unterstützt. Ebenso läßt sich der zuerst von *v. Sántha* und *Juba* am Rattenmaterial beobachtete Parallelismus

zwischen Mikrogliaentwicklung und Vascularisation auch am Huhnmaterial feststellen.

Die ektodermale Herkunft der Mikroglia (*Metz und Spatz, Pruijs, Bielschowsky, Rydberg*) ist im allgemeinen sehr unwahrscheinlich. Durch die Erforschung der Cytogenese der Mikroglia konnte die zuerst von *Hortega*, später von *Gozzano, v. Sántha* usw. angenommene mesodermale Abstammung bewiesen werden; diese Ansicht wird auch von *Belezky* vertreten. Die Zusammengehörigkeit der intra- und extracerebralen *Hortega*-Elemente, weiterhin die Entwicklung der extracerebralen Mikrogliazellen an den Stellen der embryonalen Blutbildung hat wohl auch *Belezky* beschrieben. Doch werden in seiner Arbeit die Vascularisationsverhältnisse des Gehirns niemals geschildert, auch sind die von uns in den Frühstadien beobachteten hämatogenen Urformen nicht beschrieben; verzweigte *Hortega*-Elemente hat *Belezky* nur beim 8 Tage lang bebrüteten Embryo im Gehirn zuerst gesehen, während solche bei unserem Material bereits am 5. Tag der Bebrütung zur Sicht kamen. Da *Belezky* die in der Hirnsubstanz gelegenen extravasalen Blutelemente und ihre Rolle in der Mikrogliaentwicklung übersehen hat, ist es leicht verständlich, daß er das Erscheinen der Mikrogliazellen im Gehirn auf dem Wege einer Einwanderung von extracerebralen Histiocyten erklärt, eine Annahme, der wir uns auf Grund unserer Befunde nicht anschließen können. Ebenso wenig haben wir einen Anhaltspunkt für die von *Belezky* angenommene entwicklungsbedingte Zusammengehörigkeit der Mikro- und Oligodendroglia gefunden.

Zusammenfassung.

Im unvascularisierten Nervensystem von Hühnerembryonen sind keine *Hortega*-Elemente zu finden. Die Urformen der Mikroglia erscheinen in der nächsten Umgebung der ersten Capillaren im Gehirn. Sie sind abgerundete und polygonale Elemente, welche ganz den embryonalen Blutelementen entsprechen, folglich als in die Hirnsubstanz ausgewanderte Blutelemente zu betrachten sind; mit den gut verzweigten Mikrogliazellen werden sie durch vielgestaltige Übergangsformen verbunden. Die Mikroglia ist also von direkt hämatogener, mesodermaler Herkunft.

Literaturverzeichnis.

Belezky: Virchows Arch. **284** (1932). — *Bielschowsky*: Z. Neur. **135** (1931). — *Costero*: Z. Neur. **132** (1931). — *Gozzano*: Riv. Neur. **4** (1931). — Estratto dagli Atti della Societa Italiana di Anatomia publ. nel Monitore Zool. Italiano. Suppl. **42** (1932). — *Hortega*: Revue Neur. **1930**. Hier umfassende Literatur. — *Juba*: Arch. f. Psychiatr. **101** (1933). — *Kanzler*: Z. Neur. **122** (1929). — *Metz u. Spatz*: Z. Neur. **89** (1924). — *Mihalik*: Anat. Rec. **54** (1932). — *Prujjs*: Z. Neur. **108** (1927). *Rydberg*: Acta path. scand. (Københ.) Suppl. **10** (1932). — *v. Sántha*: Arch. f. Psychiatr. **96** (1932). — *v. Sántha u. Juba*: Arch. Psychiatr. **98** (1933).