

Über die Ultrastruktur der Striatumveränderungen bei der Natriumazid-Vergiftung der Ratte*

F. W. KOLKMANN** und R. A. OKPARA

Pathologisches Institut der Universität Heidelberg - Institut für Neuropathologie
(Direktor: Prof. Dr. G. Ule)

Eingegangen am 12. November 1969

Ultrastructural Changes of the Rat Striatum Induced by Sodium-Azide

Summary. Changes in the Striatum were produced in rats with sodium azide (NaN_3) which under the light microscope resembled incomplete parenchymal necrosis. Electron microscopic studies showed a spongy state (status spongiosus) of the neuropil with primary hydropic swelling of glial and neuronal cell processes, comparable to the ultrastructural picture of experimental Vit. B_1 deficiency. There was also a vacuolization of the mitochondria, which well demonstrates the unity of structure and function of these organelles. The changes of the white matter (myelin) corresponded to the findings in cyanide intoxication; thus, they cannot be regarded as "cyanide specific".

Zusammenfassung. Mit NaN_3 (Natriumazid) wurden Striatumveränderungen hervorgerufen die lichtmikroskopisch als unvollständige Parenchymnekrosen imponierten. Elektronenoptisch handelt es sich um einen Status spongiosus des Neuropils mit primärer hydropischer Schwellung gläser und neuronaler Zellfortsätze, vergleichbar dem ultrastrukturellen Bild des experimentellen Vitamin B_1 -Mangels. Gleichzeitig liegt eine vacuolige Transformation der Mitochondrien vor, die eindrucklich die Einheit von Struktur und Funktion dieser Organellen demonstriert. Die Myelinveränderungen entsprechen den Befunden bei der Cyanidintoxikation, diese können daher nicht als cyanidspezifisch gelten.

Natriumazid (NaN_3) ist ein bekannter Cytochromoxydasehemmer, der im Tierexperiment mehr oder weniger ausgeprägte, vollständige und unvollständige cerebrale Nekrosen vornehmlich im Corpus striatum verursacht. Außer im Nucleus caudatus und im Putamen hat Hurst (1942) bei Affen über einschlägige Nekrosen in Nn. und Tractus optici, seltener auch im Pallidum, im Thalamus und Hypothalamus, in der Substantia nigra, in der Rinde von Groß- und Kleinhirn sowie Hals- und Brustmark berichtet. Hicks (1950) fand bei Ratten eindrucksvolle Balken- und bilaterale Striatumnekrosen; außerdem in einigen Fällen Läsionen des Sehnerven und seltener auch Herde in Hirnstamm und Thalamus. In neuerer Zeit hat sich Környey (1963) mit der Histopathologie natriumazidinduzierter Hirnveränderungen bei Ratten auseinandergesetzt und auch autohistoradiographische Untersuchungen mit S^{35} -Methionin angestellt. Ausführliche histochemische Studien über die NaN_3 -Intoxikation der Ratte stammen von Miyoshi (1967).

Elektronenmikroskopische Befunde sind dagegen u. W. bisher nicht mitgeteilt worden. Sie schienen uns nicht zuletzt darum hinreichend interessant zu sein, weil die von Hicks (1950) publizierte und später auch von Pentschew (1958) übernommene Abbildung dieser Nekrosen an ein weiteres Modell des interlamellären Markscheidenhydrops denken ließ, wie er etwa bei der Triäthylzinnvergiftung des Kaninchens (Kolkmann u. Ule, 1967) und der INH-Intoxikation der Ente (Rein u. Mitarb., 1968; Lampert u. Schochet, 1968) bekannt ist.

* Mit dankenswerter Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

** Herrn Prof. Dr. med. B. Ostertag zum 75. Geburtstag gewidmet.

Material und Methoden

Die Versuche wurden an 69 gesunden Albinoratten (Wistar) beiderlei Geschlechts, 90—300 g schwer, aus eigener Zucht, durchgeführt.

Ein Teil der Tiere erhielt in Anlehnung an Miyoshi 7 Tage lang viermal täglich in Abständen von 30 min intraperitoneale Injektionen einer 1⁰/₁₀₀igen Lösung von 3 mg NaN₃/kg Körpergewicht. Da diese Methode nicht den erwarteten Erfolg brachte, wurde bei einigen Tieren die Einzeldosis auf 10 mg NaN₃/kg Körpergewicht erhöht und die Injektionsbehandlung für weitere 5 Tage fortgesetzt. In einer zweiten Gruppe haben wir, den Angaben von Hicks folgend, über 3 Tage bis insgesamt zehnmal 5 mg NaN₃/kg Körpergewicht in 1⁰/₁₀₀iger Lösung intraperitoneal appliziert. Einer letzten Versuchstiergruppe wurden schließlich am 1. Tag vier intraperitoneale Injektionen von 10 mg NaN₃/kg Körpergewicht in Lösung 1:1000 verabreicht. Die Dosierung an den folgenden Tagen richtete sich nach dem Allgemeinzustand der Tiere und schwankte zwischen Einzelgaben und mehrmaligen Injektionen von 2,5 bis 5 mg/kg Körpergewicht des Giftes.

Insbesondere bei den Versuchstieren mit wiederholten Gaben von 10 mg Natriumazid war die Mortalität sehr hoch. 35 Ratten verendeten unter schweren klinischen Erscheinungen, bevor eine Tötung durch Perfusionsfixierung möglich war. Bei 10 Ratten, die alle aus der letzten Versuchsgruppe stammten, mußte der Versuch wegen des schlechten Allgemeinzustandes der Tiere abgebrochen und die Tiere perfundiert werden. Die übrigen Ratten überlebten 48 Std bis 7 Tage. Zwei Ratten der zweiten Versuchsgruppe wurden erst nach 11 Wochen getötet.

Die Perfusion erfolgte in allen Fällen in Barbituratnarkose und nach Liqueminisierung mit einer gepufferten 3,5%igen Glutaraldehydlösung (Glutaraldehyd Merck) durch die linke Herzkammer bzw. die aufsteigende Aorta. Der Glutaraldehydperfusion ging eine kurze Vorspülung mit Haemaccel (Behringwerke) voraus. Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden Blöckchen entsprechender Größe aus dem rostralen Striatum, bei einigen Tieren auch aus dem Putamen, dem Balken, dem Thalamus und dem Kleinhirn entnommen, nach Auswaschen in gepufferter Saccharoselösung in 2%iger gepufferter OsO₄ nachfixiert, über die aufsteigende Acetonreihe entwässert und in Araldit eingebettet. Von den Aralditblöckchen wurden mit einem Reichert-Ultramikrotom Om U 2 nach Sitte Semidünnschnitte und Ultradünnschnitte angefertigt. Die Semidünnschnitte dienten, nach Färbung mit Azur-II-Methylenblau (Richardson u. Mitarb., 1960), der lichtoptischen Kontrolle. Für die Elektronenmikroskopie wurde ein EM 9 A der Firma Zeiss verwendet. Von sämtlichen Rattengehirnen wurden außerdem Paraffinschnitte in üblicher Weise hergestellt und nach Nissl und Klüver-Barrera gefärbt.

Ergebnisse

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von Miyoshi konnten wir nach wiederholten Injektionen von nur 3 mg NaN₃/kg Körpergewicht bei unseren Tieren keine klinischen Ausfallerscheinungen feststellen. Erst nach Erhöhung der Einzeldosis auf 5 und 10 mg traten bereits am 1. Tag Apathie und allgemeiner Tremor auf, der sich zu schweren tonisch-klonischen Krämpfen steigerte, denen ein tiefes Koma folgte. Bei den Ratten, die dieses Stadium nicht überlebten, kam es plötzlich zu Schnappatmung und die Tiere verendeten unter den Zeichen der Atemlähmung. Bei einigen Tieren konnten wir passagere „Akinesen“ oder spastische Paresen der Hinterläufe beobachten. Bei nahezu allen Tieren fielen außerdem eine tiefe Cyanose und merkliche Senkung der Temperatur der Körperdecke auf. Dauerschäden fehlten. Selbst Ratten, die schwerste klinische Erscheinungen geboten hatten, aber überlebten, erholten sich in den folgenden 8—12 Std und waren am nächsten Tage wohlauf, um nach erneuter Intoxikation gleichartige und schwere, jedoch ebenfalls voll rückbildungsfähige Krankheitsbilder zu entwickeln. Klinische Dauerschäden fehlten auch bei den Tieren, die einen ausgeprägten morphologischen Striatumbefund aufwiesen und die Versuche um Tage bis Wochen überlebt hatten.

Morphologische Befunde

Die feingewebliche Untersuchung erbrachte zunächst eine Enttäuschung. Entgegen den Angaben der Literatur (Hicks; Miyoshi) mit einschlägigen cerebralen Läsionen bei 30 bis 50% der Versuchstiere konnten wir typische bilaterale Striatumnekrosen nur bei 3 Tieren beobachten. Alle 3 Ratten hatten mehrere Tage hohe Dosen Natriumazid (10 mg) erhalten. Die Nekrosen waren im rostralen Streifenhügel lokalisiert und imponierten lichtoptisch als unvollständige Parenchymnekrose mit Abblassung und Verdämmern des nervösen Parenchyms, mangelnder Färbbarkeit des Neuropils, Schwellung der Gliaperikarien, betontem Hervortreten der Capillaren sowie mehr oder minder eindrucksvoller Vacuolisierung und Auflockerung der Markstrahlen. Diese frischen Veränderungen fanden wir bei 2 Tieren nach zweitägiger Überlebenszeit. Die dritte Ratte hatte 11 Wochen überlebt, bei ihr lag eine typische Glianarbe bilateral im rostralen Striatum vor. Ausgeprägte Läsionen des Balkens, wie sie Hicks in Kombination mit den Striatumnekrosen abgebildet hat, waren bei keinem dieser Tiere vorhanden. Lediglich in einem weiteren Falle konnten wir einige in den vorderen Abschnitten des Corpus callosi gelegene, herdförmige, von kleinen Blutungen durchsetzte Nekrosen, Markzerfall und Gliaproliferation registrieren. Bei diesem Tier fehlten jedoch histologisch die Striatumausfälle. Neben diesen lichtoptisch eindeutigen Veränderungen bei insgesamt nur 4 Tieren fielen bei weiteren 8 Ratten im Lichtmikroskop diskrete, herdförmige Befunde im Streifenhügel auf, meist unter dem Bild einer umschriebenen Abblassung des Neuropils, diskreter Schwellung der Gliaperikarien und Endothelien sowie Auflockerung und Vacuolisierung der Markbündel bei gut erhaltenen Nervenzellen. Eine Ratte ließ einen gleichartigen, jedoch einseitigen Befund im Nucleus lateralis thalami erkennen. Bei 2 Tieren waren zahlreiche frische Erythrodiapedesisblutungen in Striatum, Thalamus und vestibulären Kernen der Medulla oblongata vorhanden. Bei zahlreichen Ratten, vornehmlich aus der dritten Versuchsgruppe, imponierte außerdem eine Abblassung und Auflockerung der zentralen Markfasern in den hinteren Balkenabschnitten, verbunden mit Schwellung glöser Perikarien. Läsionen des N. und Tractus opticus, wie sie von Hurst, Hicks, Miyoshi und auch von Környey beschrieben worden sind, fehlten bei unseren Versuchstieren völlig.

Elektronenoptisch bietet sich ein buntes und vielgestaltiges Bild. Führendes ultrastrukturelles Symptom der Natriumazidvergiftung ist ein diffuser Hydrops der Zellfortsätze des Neuropils (Abb. 1), ein „Status spongiosus“, der an verschiedenen Stellen unter Zerfall der begrenzenden Membranprofile der hydropischen Zellfortsätze in eine spongiöse Partialnekrose übergeht. Soweit synaptische Strukturen erkennbar sind, lassen sich einzelne geschwollene Fortsätze ohne Schwierigkeiten bereits bei der Übersicht als Dendriten identifizieren. Durchmustert man die Präparate mit stärkerer Vergrößerung, wird deutlicher, daß postsynaptische Dendritenabschnitte (Abb. 2a) häufiger an der Bildung der spongiösen Transformation des Neuropiles beteiligt sind.

Von einer elektiven Schädigung nervöser Fortsatzelemente kann man jedoch nicht sprechen, viele der aufgetriebenen Fortsatzanschnitte tragen keine Synapsen und sind somit nicht sicher als glöser oder nervaler Provenienz zu identifizieren. Frühzeitig begegnet man auch Astrocyten mit aufgetriebenem strukturarmem „wäßrigem“ Perikarion und ebenso veränderten Fortsätzen. Der Status spongiosus bildet keine perivaskulären Schwerpunkte, wie wir es vom banalen Hirn-ödem her kennen, sondern betrifft gleichmäßig das gesamte zwischenzellige Grau. Geschwollene perivaskuläre Astrocytenendfüße beinhalten schon nach zwei tägiger Überlebenszeit sehr oft zahlreiche, typische, mit Blei stark kontrastierbare Polysaccharid- bzw. Glykogenpartikel; andere perivaskuläre Astrogliafußstücke enthalten kein Glykogen, sondern eine große Zahl frei im Cytoplasma liegender, rosettenförmig angeordneter Ribonucleoproteidgranula (Abb. 2b). Partikuläres Glykogen und Ribosomen findet man darüber hinaus auch in geschwollenen Fortsätzen des Neuropils. Die inmitten des hydropisch umgewandelten Grund-

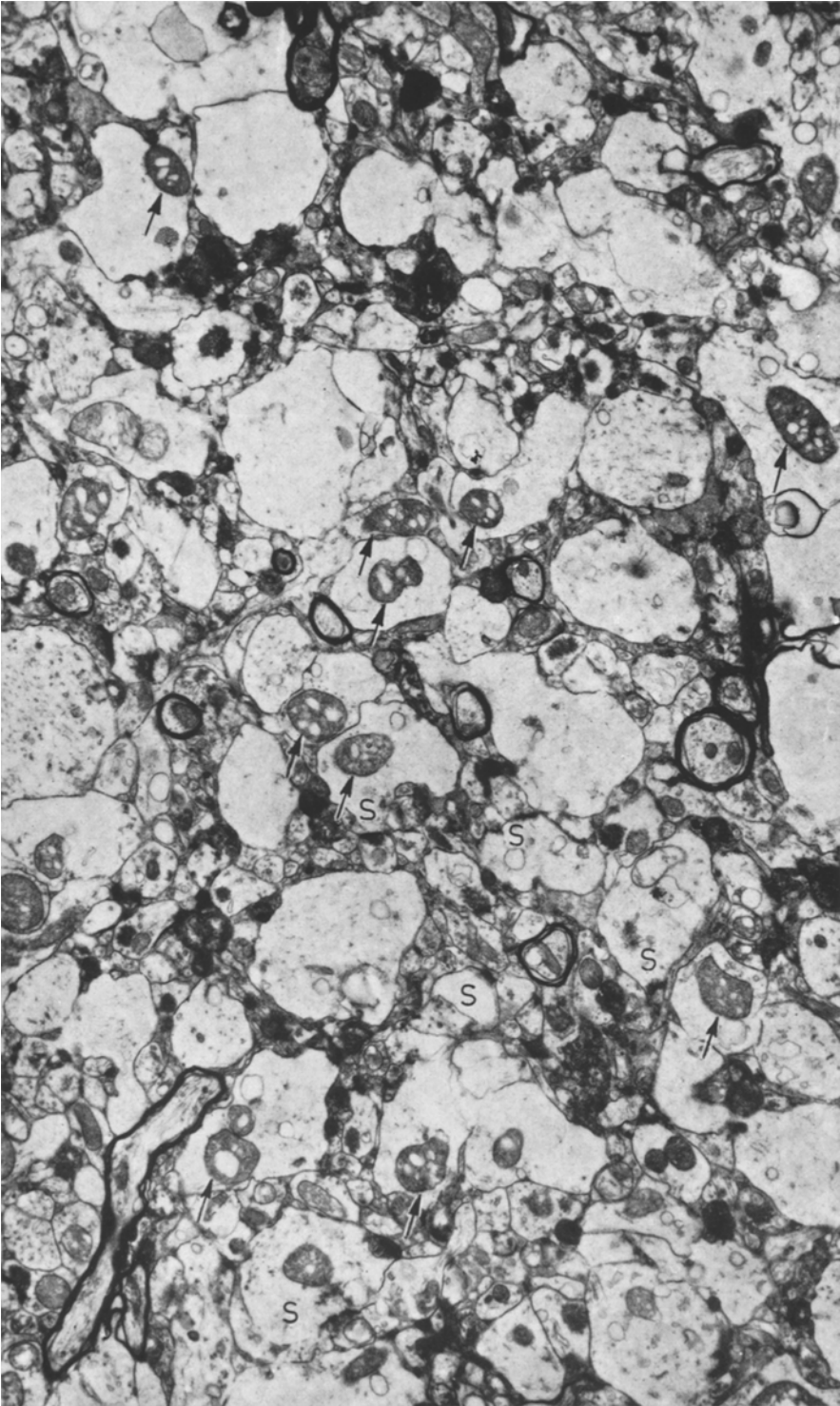


Abb. 1

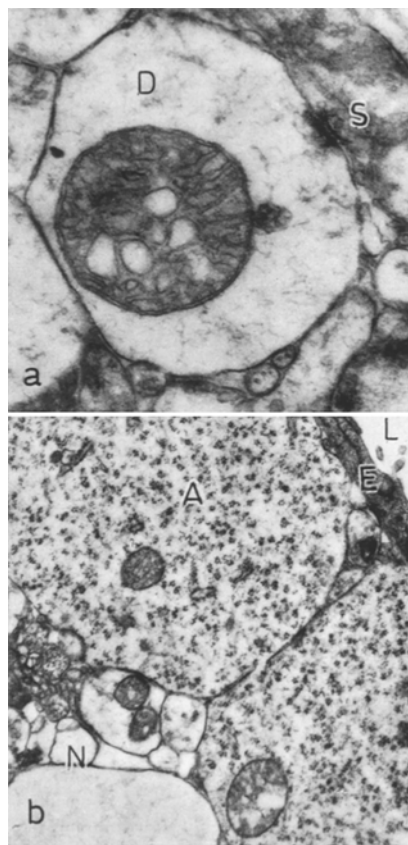


Abb. 2a u. b. Ultrastrukturelle Details aus einem Striatumherd. a Mäßig geschwollener postsynaptischer Dendritenabschnitt (*D*). Vacuolisierung der Cristae mitochondriales. *S* Synapse. EM-Vergr.: 1:18000, Nachvergr. 1,75mal. b Zahlreiche typische freie Ribosomen in pericapillären Astrocytenfüßen. *A* Astrocytenfortsätze, *E* Endothel, *L* Gefäßlumen, *N* Neuropil. EM-Vergr.: 1:6000, Nachvergr.: 8mal

gewebes liegenden Capillaren imponieren häufig durch eine beträchtliche Endothel- und Pericytenschwellung, deren beider Cytoplasma dann eine Zunahme der Elektronendichte mit Vermehrung der Ribosomen und der Mitochondrien aufweist.

Der bisher geschilderte Befund repräsentiert das submikroskopische Korrelat des auch histologisch voll ausgeprägten Striatumherdes. In den übrigen Fällen mit histologisch weniger eindeutigem Befund ist die hydropische Fortsatzschwellung im Neuropil wesentlich diskreter und herdförmiger entwickelt bzw. fehlt ganz. Jedoch liegen bei diesen Ratten, auch bei gering ausgeprägtem oder gar fehlendem Status spongiosus des Neuropils bereits eigenartige Mitochondrienveränderungen sowohl in den Zellfortsätzen des Neuropils als auch — seltener — in gliösen und nervalen Perikarien vor. Diese Mitochondrien haben eine deutliche Zunahme ihres Volumens und Vermehrung der Cristae erfahren. (Abb. 3a). Die relativ langen Cristae sind zumeist transversal zur Längsachse der Organellen ausgerichtet. Neben Volumenzunahme und Vermehrung der Cristae imponiert

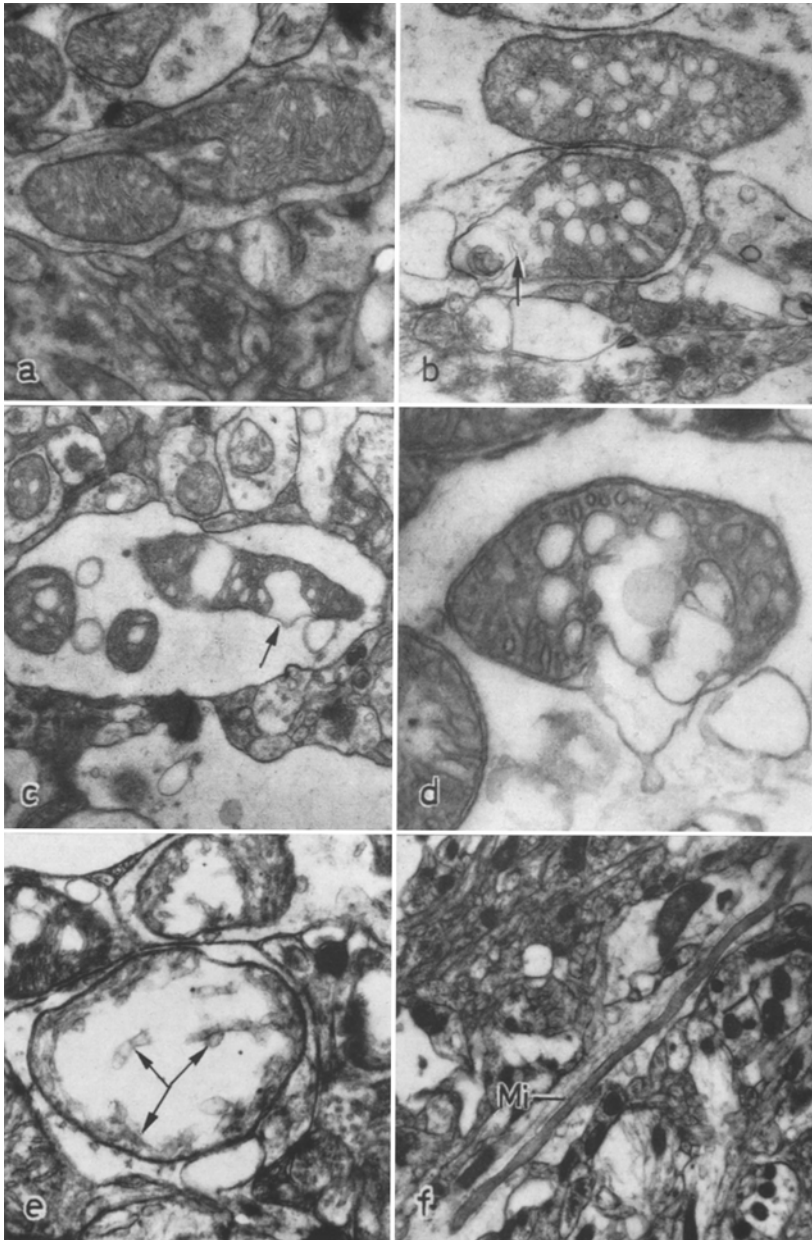
Abb. 1. Elektronenoptische Übersichtsaufnahme aus einem Striatumherd. Hydrops der Zellfortsätze des Neuropils, in den geschwollenen Fortsätzen vacuolisierte Mitochondrien (Pfeile). *S* Synapsen. EM-Vergr.: 1:2800, Nachvergr. 4mal

eine mehr oder minder ausgeprägte Vacuolisation des Binnenraumes. Zwischen den Cristae mitochondriales liegen zahlreiche, membranbegrenzte, leere Kreisprofile (Abb. 3b). Wie stärkere Vergrößerungen ausweisen, handelt es sich um umschriebene, eventuell mehrfach hintereinanderliegende Vesiculationen und tubuläre Umwandlungen der Mitochondrienleisten. Die tubuläre Umwandlung kann erhebliche Ausmaße erreichen und zu breitflächigen Abfaltungen der inneren Mitochondrienhülle führen, u. U. verbunden mit gleichzeitiger circumscripiter Aufblähung der äußeren Grenzmembran (Abb. 3c und d). Die Vacuolen besitzen meist einfache Membranen, ab und an auch Doppelmembranen und können sich schließlich von den Cristae separieren, um als große, zunächst noch membranumgrenzte leere Blasen frei im Binnenraum des Mitochondrion zu liegen oder zu größeren Hohlräumen zu konfluieren. Nach Untergang der Vacuolenmembranen resultieren „wäßrige“ Aufhellungen der Matrix, bis eine singuläre, von einer Doppelmembran umgebene, umfangreiche Vacuole zurückbleibt, die vielleicht noch einige fragmentierte Cristae enthält. (Abb. 3e). Daneben beobachtet man auch eine transparente Umwandlung der Mitochondrienmatrix ohne vorhergehende Vacuolisierung. Seltener ist eine primäre Auflösung der inneren und äußeren Hüllmembranen, so daß die Cristae dann frei im Cytoplasma liegen. Während in Fällen mit wenig ausgeprägtem, beginnendem oder im Initialstadium verharrendem Hydrops des Neuropils neben den veränderten Mitochondrien noch reichlich intakte Organellen vorhanden sind, wie sie etwa von Mugnaini (1964) für das Striatum der Ratte beschrieben wurden, überwiegen in den Fällen mit ausgeprägtem Status spongiosus des Neuropils und spongiöser Partialnekrose die alterierten Mitochondrien, die man bereits bei der Übersichtsvergrößerung unschwer wahrnehmen kann. In Abb. 3 sind einige Hauptvertreter der beschriebenen Mitochondrienschäden synoptisch zusammengestellt. Nur am Rande sei erwähnt, daß wir bei mehreren Tieren auch die von Mugnaini beschriebenen Sonderformen der Mitochondrien mit helixartig gewundenen Innenfilamenten gefunden haben. Eine besondere Beziehung dieser Mitochondrienart, die für das Striatum der Ratte spezifisch sein soll, zu den beschriebenen degenerativen Läsionen, haben wir nicht feststellen können.

Bei je einem Versuchstier lagen umschriebene disseminierte Fortsatzschwellungen einseitig im dorso-lateralen Thalamus und im Vestibulariskerngebiet mit einschlägigen Mitochondrienveränderungen vor.

Alteration der Mitochondrien und Hydrops des Neuropils überdauern das Ende der Injektionsbehandlung um mehrere Tage und sind sowohl dann vorhanden, wenn das Versuchstier bereits am letzten Injektionstage perfundiert wurde als auch noch 7 Tage später. Nach elfwöchiger Überlebenszeit hingegen fehlen einschlägige Mitochondrienveränderungen nahezu völlig, während geschwollene Zellfortsätze im Neuropil noch disseminiert nachweisbar sind. Die Mitochondrien dieses Falles entsprachen dem bisher gewohnten Bild. Sie zeichneten sich allerdings z. T. durch eine gewisse Überlänge — mehr als 12μ — aus, besaßen eine auffallend dichte Matrix und zumeist längsgestellte Cristae (vgl. Abb. 3f).

Abb. 3a—f. Synoptische Zusammenstellung der häufigsten Mitochondrienveränderungen. a Volumenzunahme und Vermehrung der Cristae. Die Abbildung stammt von einem Tier mit beginnendem, wenig ausgeprägtem Status spongiosus des Neuropils. EM-Vergr.: 1:8000, Nachverg.: 2,3mal. b Vacuolisierung der Cristae, teilweiser Untergang der Vacuolenmembranen



(Pfeil). EM-Vergr.: 1:6000, Nachvergr. 2,75mal. c Tubuläre Umwandlung der Cristae mit breitflächiger Abfaltung der inneren Hüllmembran (Pfeil). EM-Vergr. 1:6000, Nachvergr.: 2,3mal. d Ähnlicher Befund wie in c, mit gleichzeitiger Ausstülpung der äußeren Mitochondrienmembran und Untergang von Vakuolenmembranen. EM-Vergr. 1:18000, Nachvergr.: 2,25 mal. e Fortgeschrittener Untergang der Vakuolenmembranen, wässrige Aufhellung der Mitochondrienmatrix. Pfeile = Fragmentierte Cristae mitochondriales. EM-Vergr.: 1:6000, Nachvergr.: 3,8mal. f Mitochondrion (*Mi*) nach elfwöchiger Überlebenszeit. EM-Vergr.: 1:6000, Nachvergr. 1,4mal

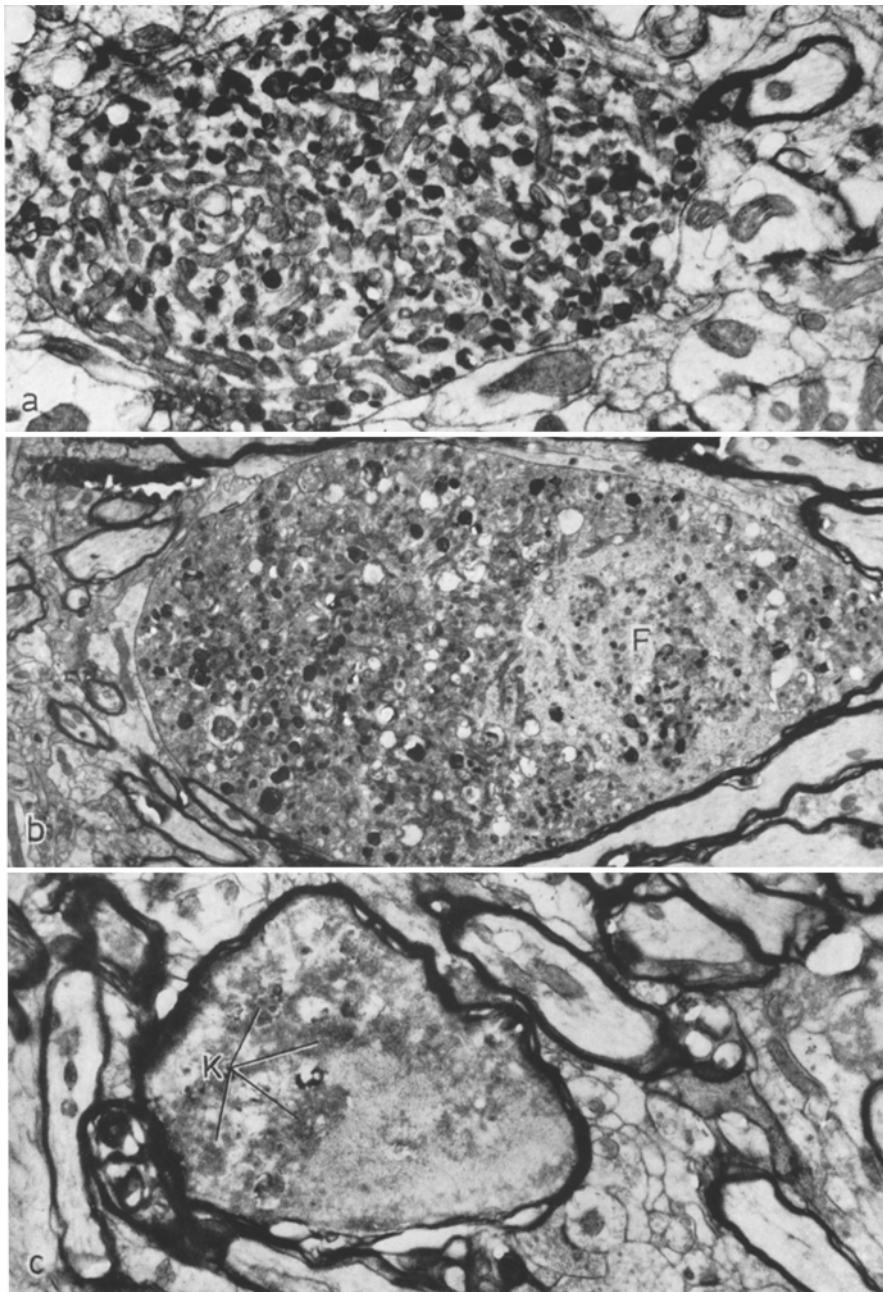


Abb. 4a—c. Ordnung der verschiedenen, sekundären axonalen Reaktionsformen nach dem Schema von Lampert. a Reaktive Axonschwellung mit zahlreichen dichten Körpern und Mitochondrien. EM-Vergr.: 1:6000, Nachvergr.: 2,25mal. b Regenerative Axonschwellung. Bei *F* zahlreiche filamentäre Strukturen. EM-Vergr.: 1:2800, Nachvergr.: 2,3mal. c Degenerative Axonveränderungen. Feingranulärer und feinflockiger Zerfall des Axoplasma unter Bildung osmiophiler, hier noch mäßig elektronendichter Kondensate (*K*). EM-Vergr.: 1:6000, Nachvergr.: 2,3mal

Bei ausgeprägtem Status spongiosus und spongiöser Partialnekrose wird das ultrastrukturelle Bild außerdem von zahlreichen Axonaufreibungen, teils mit, teils ohne Myelinscheide geprägt. Diese Axonschwellungen bieten in unseren Fällen ein sehr variables, keineswegs einheitliches Bild (Abb. 4). Sie enthalten in wechselnder Zahl Mitochondrien mit teilweise vacuolisierter Matrix, z. T. auch spiraliger, lamellärer und zirkulärer Transformation ihrer Membranen und Cristae. Neben den Mitochondrien sind in wechselndem Maße vesiculäre, filamentäre und tubuläre Strukturen und Profile sowie geschichtete osmiophile, elektronendichte Körper, multivesiculäre und multigranuläre Organellen und sogenannte Lamellenkörperchen (Blümeke u. Niedorf, 1964) angehäuft. Das quantitative Verhältnis der diversen Strukturen zueinander variiert im Einzelfalle erheblich. In einigen dieser Aufreibungen überwiegen die Mitochondrien und dichten Körper, andere beinhalten wesentlich mehr Vesikel, Tubuli und Filamente. Weitere Axone, meist kleineren Kalibers, lassen einen feinflockigen und feingranulären Zerfall des Axoplasma mit osmiophilen Kondensaten, Vacuolenbildungen und elektronendichten, osmiophilen, flockigen dichten Körpern erkennen. Die letztere Axonläsion haben wir besonders bei dem Tier mit ausgeprägten herdförmigen Balkennekrosen gefunden, sie war jedoch auch im Striatum der anderen Ratten nachweisbar.

Die Schäden der Marksubstanz stellen sich ultrastrukturell als Schwellungen der inneren, dem Axon anliegenden gliösen Cytoplasmalamellen dar, so daß unterschiedlich umfangreiche Aufblähungen der gesamten Myelinscheide resultieren. Das Axon wird von der inneren Zirkumferenz der Markscheide separiert und erscheint — sofern es bei günstiger Schnittrichtung noch nachweisbar ist — wie komprimiert einem Sektor dieser inneren Markscheidenzirkumferenz angeschmiegt (Abb. 5b). Das Bild kann den Eindruck einer „Retraktion“ des Axon von der Myelinscheide, bei nicht getroffener Axon auch einer hydropischen Schwellung des letzteren, mit Auftreibung des Markmantels erwecken (Abb. 5a). Tatsächlich läßt sich aber mit stärkerer Vergrößerung sehr häufig eine Doppelmembran um das Axoplasma nachweisen, so daß diese Möglichkeiten zwar nicht ganz auszuschließen sind, in der Mehrzahl aber ausscheiden. Darüberhinaus sind häufig auch die äußeren „Gliazungen“ der Markscheiden hydropisch aufgetrieben und zu umfangreichen, strukturarmen cytoplasmatischen Fortsätzen entfaltet, welche die Myelinscheiden auseinander drängen. Eine primäre Erweiterung des extracellulären Raumes, wie beim banalen Ödem des Marklagers, existiert nicht. Zur Lockerung des Markgefüges tragen außerdem geschwollene Astrocyten bei, deren strukturarme oder optisch leere, verbreiterte Fortsätze wie helle Straßen durch das Marklager ziehen (Abb. 5a). Die interfasciculäre Oligodendroglia unterliegt in fortgeschrittenen Stadien in Balken und Striatum nekrobiotischen Veränderungen und geht, unter oftmals erheblicher Schwellung der Perikarien, Rarefizierung der cytoplasmatischen Organellen wie der Zell- und Kernmembran, zugrunde. Die Schwellung der Glia, insbesondere der Oligodendroglia, ist bereits lichtoptisch deutlich sichtbar. Neben der hydropischen Auftreibung innerer und äußerer Glialamellen unterliegt das Myelin einzelner Markscheiden wie ganzer Markbündel weiteren schweren Veränderungen mit typischen Aufquellungen, Dissoziation und wabigem Zerfall der Lamellen, Fragmentation und Bildung von Myelinkugeln. Auch eine intramyelinäre Vacuolenbildung mit Aufsplitterung in der Zwischenlinie, wie beim Triäthylzinnödem, findet gelegentlich statt.

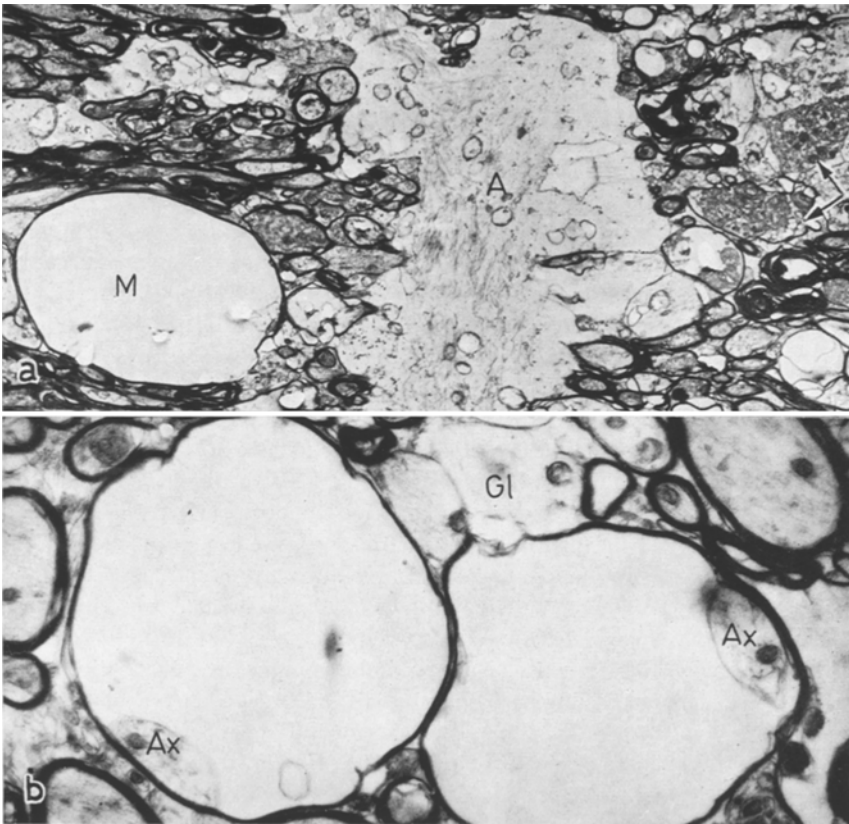


Abb. 5. a Geschwollener Astrocytenfortsatz im Randbezirk einer Balkennekrose. *A* Astrocytenfortsatz; *M* ballonierte Myelinscheide, ein Axon ist nicht sichtbar. Pfeile=sekundäre Axonaufreibungen. EM-Vergr.: 1:1800, Nachvergr.: 2,3mal. b Ballonierte Markscheiden durch Schwellung der inneren Glialamellen. Axonreste (*AX*) eben noch sichtbar. Bei *Gl* geschwollener äußerer Gliafortsatz. EM-Vergr.: 1:6000, Nachvergr.: 2,3mal

Resorptive und reparative Vorgänge entwickeln sich in Marksubstanz und Neuropil erst nach mehrtägigem Überleben und fehlen bei unmittelbar an die Injektionsbehandlung angeschlossener Perfusion. Nach 2 Tagen erscheinen reaktive Astrocyten sowie aktivierte und progressive Mikrogliazellen, vornehmlich in den Neuropil- und Marknekrosen. Die Astroglia bildet, neben den besonders in den Fußstücken angesammelten Ribosomen und partikulärem Glykogen, Fasern. Bei der Ratte mit ausgeprägter Balkennekrose lag zudem eine umfangreiche Infiltration vornehmlich rundkerniger Leukocyten in den Nekrosen vor.

Bei elfwöchiger Überlebenszeit beherrschen die reparativen Vorgänge, makro- und mikrophagocytärer Abbau sowie Faserbildung das Feld. Im Gegensatz zu den Mitochondrienveränderungen, die nahezu vollständig verschwunden sind, persistiert noch nach 11 Wochen ein disseminierter Fortsatzhydrops im Neuropil, wie auch in den Markstrahlen des Striatum noch aufgetriebene, ballonierte Myelinscheiden vorhanden sind.

Ganglienzellschäden treten erst bei voll entwickeltem Status spongiosus im Bereich der Partialnekrosen auf, meist unter dem Bild bekannter, anoxischer Nervenzellalterationen als Tigrolyse mit Aufhellung des Grundcytoplasma und Rarefizierung sowohl der freien wie der an das endoplasmatische Reticulum gebundenen Ribosomen. Nur selten finden sich vesiculäre und vacuolige Auftreibungen des endoplasmatischen Reticulum. Einzelne Ganglienzellen lassen auch Veränderungen im Sinne der Coagulationsnekrose erkennen, wie sie Hager (1968) in seinem Handbuchartikel abgebildet hat, mit faserigem und flockigem Zerfall des Cytoplasma, Untergang der Zellorganellen und dichter Gerinnung der Kernsubstanz. Nach elfwöchiger Überlebenszeit sind frische Nervenzellschäden nicht mehr nachweisbar. Abschließend sei betont, daß keine Korrelationen zwischen den schweren klinischen Bildern und dem Ausmaß des feingeweblichen und ultrastrukturellen Befundes bestehen.

Besprechung der Befunde

Unsere Befunde stehen in einem gewissen Gegensatz zu denen der Voruntersucher, die z. T. mit wesentlich niedrigeren Dosen (Miyoshi) eine deutlich geringere Mortalität der Tiere und höhere Erfolgsquote hinsichtlich der anatomischen Befunde erzielt haben. Die höhere Mortalität in unserem Material erklärt sich zwanglos aus den hohen Dosen NaN_3 , die unsere Versuchstiere erhielten. Die auffallend unterschiedliche Manifestationsrate der Striatumnekrosen bei unseren Ratten, sowohl im Hinblick auf die Ergebnisse der Voruntersucher als auch in unserer eigenen Versuchsreihe bei Tieren mit gleichen Vergiftungsdosen, Überlebenszeiten und klinischen Ausfällen hingegen weisen auf eine individuell abgestufte und differente „Vulnerabilität“ der Tiere gegenüber der einwirkenden Noxe hin.

Eine weitere Diskrepanz zu den Befunden der Literatur ergibt sich aus der topographischen Verteilung der Herde außerhalb des Striatum. So hat Miyoshi bei keinem Versuchstier Balkenläsionen beobachten können. Balkenveränderungen waren dagegen in unserem Material häufiger vorhanden, allerdings nur einmal vollausgeprägte Nekrosen, während Schäden des Tractus opticus entgegen den Literaturangaben bei unseren Tieren völlig fehlten. Auch unsere konventionell lichtoptisch erhobenen histopathologischen Befunde stimmen qualitativ nur z. T. mit denen der Voruntersucher überein. Hicks hat mehr oder weniger exklusive Markscheiden beschrieben, während die Befunde von Miyoshi auf eine komplette Nekrose im Striatum hindeuten. Unsere feingeweblichen Feststellungen hingegen sprechen weder für eine bevorzugte Schädigung der Markstrahlen noch handelt es sich um vollständige Erweichungen, sondern um unvollständige Nekrosen. Die Aufhellung des Grundgewebes in einigen Fällen unseres Materiales läßt dabei bereits histologisch an eine primäre Schädigung des Neuropils denken.

Nach dem submikroskopischen Befund haben wir es bei der experimentellen Natriumazidnekrose des Striatum der Ratte mit einem weiteren Modell eines Status spongiosus des Neuropils zu tun, vergleichbar dem ultrastrukturellen Substrat der B_1 -Avitaminose von Taube und Ratte (Ule u. Mitarb., 1967; Ule u. Kolkman, 1968; Wegener u. Mitarb., 1968). Bei beiden experimentellen Modellen erfährt das Neuropil eine gefäßunabhängige, hydropisch-spongiöse Transformation, an der sich auch Dendriten beteiligen. Während jedoch beim experimentellen B_1 -Mangel die Schwellung der Dendriten überwiegt, sind bei der NaN_3 -

Vergiftung mehr unidentifizierbare Fortsätze betroffen, die keine Synapsen tragen. Soweit diese Zellfortsätze optisch „leer“ erscheinen oder Glykogenpartikel bzw. Ribosomen enthalten, liegt der Gedanke an Astrocyten bzw. reaktive Astroglia (Hager, 1962; Hager u. Mitarb., 1967) nahe. Allerdings haben Fischer u. Blinzinger (1968) unter experimentellen Bedingungen Glykogen auch in Dendriten dargestellt, eine Erfahrung, die wir aufgrund eigener, bisher unveröffentlichter experimenteller Befunde bestätigen können. Der tatsächliche Anteil neuraler und gliöser Fortsatzelemente an der Bildung des Status spongiosus bei der Natriumazidintoxikation läßt sich nur schwer genauer abschätzen, man hat jedoch den Eindruck einer überwiegenden Beteiligung astroglöser Zellfortsätze, deren Schwellung sich relativ früh auch auf die Perikarien erstreckt. Formal beruht die Fortsatzanschwellung auf einer Flüssigkeitsanschoppung in der Peripherie der nervösen und gliösen Zellapparate. Es handelt sich dabei nicht um ein banales Ödem auf dem Boden einer Blut-Hirn-Schrankenstörung, sondern um ein cytotoxisches Ödem (Klatzo, 1967) mit primärer, metabolisch induzierter Erhöhung der Flüssigkeitsproduktion und Störung der Transportfunktion. In Anlehnung an die Einteilung von Seitelberger (1967) und Erweiterung dieser Vorstellungen könnte man auch beim Natriumazidmodell von einer „Dystrophie gliös-neuronaler Transportstrukturen“ sprechen.

Derartige Modellversuche dürften ein gewisses klinisches Interesse beanspruchen. In der letzten Zeit haben wir aus ultrastrukturellen Untersuchungen von menschlichem Biopsiematerial den Eindruck gewonnen, daß manchen, ätiologisch völlig ungeklärten, degenerativen, mit psychischer Retardation und Idiotie verbundenen, organischen Hirnprozessen des Säuglings- und Kindesalters formal ähnliche Ultrastrukturen der Hirnrinde zugrunde liegen (Ule, 1968), die vermutlich auf noch unbekannten Stoffwechselanomalien beruhen. Morphologisch ähnliche submikroskopische Befunde sind schließlich auch im Erwachsenenalter bekanntgeworden, so bei der präsenilen subakuten spongiformen Encephalopathie bzw. der Creutzfeldt-Jakobschen Krankheit (Gonatas u. Mitarb., 1964; Marin u. Vial, 1964; Foncin, 1967; Sluga u. Seitelberger, 1967).

Den biochemischen Hintergrund unseres Experimentes bildet eine Hemmung der Cytochromoxydaseaktivität, deren näherer Mechanismus bisher nicht völlig geklärt ist. Die Blockierung dieses Systemes läuft auf eine Senkung der Umsatzgröße der terminalen eisenhaltigen Atmungsfermente hinaus, verhindert die Verbindung von ionisiertem Sauerstoff mit ionisiertem Wasserstoff zu Wasser und dürfte die Energieproduktion der Zelle erheblich drosseln. Unsere Versuche weisen, ähnlich dem experimentellen Vitamin B₁-Mangel, auf eine besonders hohe Empfindlichkeit des Neuropils, noch vor den Nervenzellen, gegenüber bestimmten Beeinträchtigungen des energieliefernden oxydativen Metabolismus hin. Dabei spielen die Mitochondrien die Rolle empfindlicher Indikatoren, welche frühzeitig die veränderte Stoffwechsellage und -funktion signalisieren. Strukturänderungen der Mitochondrien als Ausdruck experimenteller Funktionsstörungen sind lange bekannte und viel diskutierte Tatsachen. Jedoch ist uns aus der Literatur keine Versuchsanordnung bekanntgeworden, bei der sich dieser Prozeß so akzentuiert und primär im Neuropil vollzogen hätte. Der formale Ablauf, Volumenzunahme, Vermehrung der Cristae, vacuolige Transformation und endliche „Chondriolyse“ dieser Organellen bei unserer Versuchsreihe kann dabei keineswegs als spezifischer

Vorgang angesehen werden. Er deutet lediglich auf das Vorliegen einer metabolischen Störung hin. Ein formaler oder gar kausaler Zusammenhang zwischen der Alteration des Chondriosomes und der Fortsatzschwellung ist dabei nicht zwingend zu unterstellen.

Bezeichnenderweise betrifft die Transformation der Organellen ihre Membransysteme, die nach Sjöstrand (1964) die Atmungsenzyme in linearer Abfolge beherbergen. Die Dissoziation der äußeren und inneren Grenzhülle und Vacuolisation der Cristae führt dabei zu einer erheblichen Erweiterung der sogenannten „äußeren Mitochondrienkammer“ (Malamed u. Recknagel, 1959). Die vital präformierte Existenz dieser Spalträume innerhalb der Grenzmembran und der Cristae unter physiologischen Bedingungen wird allerdings von Malhotra (1966) bestritten und als postmortales oder fixationsbedingtes Phänomen angesehen. Während sich Volumenzunahme und Cristaevermehrung als Ausdruck einer frustrierten Adaptation an die eingetretene energetisch-dynamische Insuffizienz interpretieren lassen, könnten Vacuolisation und endliche Desintegration der Organellen einem Stadium zunächst wohl noch rückbildungsfähiger, schließlich aber irreversibler Dekompensation zugeordnet werden. Dem frühzeitigen, bereits am ersten Tag der Intoxikation möglichen ultrastrukturellen Nachweis der Mitochondrientransformation entsprechen histochemische Befunde Miyoshis, der bereits 12—18 Std nach der letzten Injektion von NaN_3 eine diffuse Reduzierung der Cytochromoxydaseaktivität, allerdings nicht nur im Striatum, registriert hat. Nach den Erfahrungen von Merker (1969) treten anoxische Mitochondrienschäden an Vorderhornzellen des Rückenmarkes nach temporärer Ischämie ultrastrukturell weit früher in Erscheinung als sich vergleichbare Gewebsschäden etwa histochemisch (Colmant, 1965) manifestieren.

Mitochondrienalteration und Status spongiosus sind auch 7 Tage nach dem Ende der Injektionsbehandlung noch nachweisbar. Dabei verharren die Veränderungen nach unserem Eindruck, sofern keine Partialnekrose eintritt, mit großen individuellen Differenzen auf dem Stadium, das am Ende der NaN_3 -Applikation erreicht wurde. Allerdings schließen unsere Befunde weitergehende Läsionen bei Tieren mit mehrtägiger Überlebenszeit und nur gering entwickelten Neuropilschäden zum Zeitpunkt der Perfusion nicht aus, da wir möglicherweise auch Rückbildungsstadien erfaßt haben.

Entgegen unserer ursprünglichen Annahme handelt es sich bei den Veränderungen der weißen Substanz nicht um das Schädigungsmuster der Triäthylzinnvergiftung. Unter den Markläsionen erscheint wohl auch ein vergleichbarer interlamellärer Markscheidenhydrops, jedoch spielt dieses Teilsymptom keine führende Rolle. Ganz im Vordergrund stehen vielmehr Schäden, die sich weitgehend mit den von Hirner (1969) beschriebenen Alterationen der Myelinscheiden im Corpus callosum bei der experimentellen Cyanidvergiftung decken. Es handelt sich um einen Hydrops der äußeren und inneren Glialamellen der Markscheiden, wobei die Alteration der inneren Gliazungen überwiegt. Die den Markscheidenkomplex (Hirner) formenden Oligodendrogliafortsätze reagieren also nicht anders als die peripheren, gliös-neuronalen Fortsatzstrukturen des Neuropils der grauen Substanz. Vacuolisierte Mitochondrien treten innerhalb der Markstrahlen seltener in Erscheinung. Ob und inwieweit die Ursache für dieses abweichende Verhalten in den unterschiedlichen Enzymmustern der grauen und weißen Substanz bzw. der

Glia (Friede, 1965, 1966), speziell einem geringeren Cytochromoxydasegehalt des Markes (Hicks, 1950; Friede, 1968) zu suchen ist, muß offenbleiben. In diesem Falle müßte man auch eine unterschiedliche Fermentausrüstung und Vulnerabilität der Mitochondrien in Erwägung ziehen. Wir haben jedoch bereits betont, daß kein zwingender Zusammenhang zwischen der mitochondrialen und der cytoplasmatischen Manifestation der Ultrastrukturschäden bestehen muß. Beide können möglicherweise parallel zueinander und unabhängig voneinander ablaufen, obgleich ihnen die gleiche experimentelle Noxe zugrunde liegt. Offenbar gibt es in der Pathogenese der in Rede stehenden Veränderungen von grauer und weißer Substanz zusätzliche, weitgehend unbekannte Teilfaktoren, unter denen die Blockade der Atmungskette nur die Rolle der „Initialzündung“ spielt. Anders ließe sich die Persistenz eines disseminierten, herdförmigen Fortsatzhydrops wie einzelner ballonierter Markscheiden nach elfwöchiger Überlebenszeit auch schwerlich verstehen, für die man eine direkte NaN_3 -Wirkung ja kaum heranziehen kann.

Aufgrund unserer Befunde können wir der Ansicht Hirners, der das cytotoxische Fortsatzödem des Markscheidenkomplexes für eine cyanidspezifische Leistung hält, nicht beipflichten. Im Falle der Natriumazidvergiftung scheint auch keine Veranlassung gegeben, wie bei der Cyanidintoxikation spezifische von unspezifischen pathogenetischen Faktoren zu differenzieren und letztere für die weitergehenden Markschäden in Anspruch zu nehmen, die in einem Zusammenbruch einzelner oder ganzer Gruppen von Myelinscheiden gipfeln.

Die Schwellung des Cytoplasma bleibt bei der NaN_3 -Intoxikation nicht auf die Fortsätze der interfasciculären Oligodendroglia beschränkt, sondern teilt sich frühzeitig den Zellperikarien mit. Im Gegensatz zur Cyanidvergiftung handelt es sich nicht um Erweiterungen der Zisternen des endoplasmatischen Reticulum oder vacuolige Flüssigkeitseinlagerungen, sondern um eine diffuse „wäßrige“ Metamorphose des gesamten Cytoplasma, die mit einem Verlust an Zellorganellen verbunden sein und zum Zelluntergang führen kann.

Schwierigkeiten hinsichtlich ihrer Einordnung in das von Lampert (1967) mitgeteilte Schema axonaler Reaktionsformen bereiten die ohne Zweifel sekundären Axonaufreibungen unseres Materials, die sich durch eine außerordentliche Variabilität und großen Formenreichtum ihrer Substruktur auszeichnen. Eine Einordnung nach den von Lampert gegebenen Kriterien ist in Abb. 4 versucht worden.

Die resorptiven und reparativen Vorgänge bieten keine Besonderheiten. Es sei jedoch auf ein interessantes Detail hingewiesen, nämlich die Anwesenheit zahlreicher Ribosomen in hydropischen Astrogliafortsätzen, besonders in pericapillären Endstücken. Eine derartige Ribosomenvermehrung gilt als Kennzeichen reaktiver Astroglia und soll sich gewöhnlich auf das perikarielle Cytoplasma beschränken (Hager, 1968), während bei unseren Versuchen eindeutig die Zellperipherie bevorzugt wird.

Literatur

- Blümcke, S., Niedorf, H. R.: Elektronenoptische Untersuchungen über die Feinstruktur der „Neurofilamente“ in der normalen und regenerierenden peripheren Nervenfasern. *Beitr. path. Anat.* **130** 133—157 (1964).
- Colmant, H. J.: Zerebrale Hypoxie. In: Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie (Hrsg.: W. Bargmann u. W. Doerr). Stuttgart: Thieme 1965.

- Fischer, J., Blinzinger, K.: Vorkommen von Glykogen in geschwollenen Dendriten bei experimenteller Kobaltnekrose des Rattengehirnes. *Virchows Arch. Abt. B Zellpath.* **1**, 201—210 (1968).
- Foncin, J. F.: Étude ultrastructurale de la maladie de Creutzfeldt-Jakob. *Acta neuropath. (Berl.)*, Suppl. **3**, 127—130 (1967).
- Friede, R. L.: Enzyme histochemistry of neuroglia. *Progr. Brain Res.* **15**, 35—47 (1965).
- Topographic brain chemistry. New York-London: Academic Press 1966.
- Die Funktion der Glia im Lichte neuerer histochemischer Befunde. *Acta neuropath. (Berl.)* Suppl. **4**, 53—54 (1968).
- Gonatas, N. K., Terry, R. D., Weiss, M.: Electron microscopic study in two cases of Jakob-Creutzfeldt disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **24**, 575—598 (1965).
- Hager, H.: Elektronenmikroskopische Befunde zur Cytopathologie der Astrocyten im Zentralnervensystem der Säugetiere: Reaktive Veränderungen und gliöse Defektdeckung. *Vth Internat. Congr. Electron Microsc. Philadelphia 1962*, proc. vol. 2. New York: Academic Press 1962.
- Allgemeine morphologische Pathologie des Nervengewebes. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. III/3, Die Organe II. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Luk, S., Ruscakova, D., Ruscak, M.: Histochemische, elektronenmikroskopische und biochemische Untersuchungen über Glykogenanhäufungen in reaktiv veränderten Astrozyten der traumatisch lädierten Säuger Großhirnrinde. *Z. Zellforsch.* **83**, 295—320 (1967).
- Hicks, S. P.: Brain Metabolism in vivo. The distribution of lesions caused by cyanide poisoning, insulin hypoglycaemia, asphyxia in nitrogen and fluoroacetate poisoning in rats. *Arch. Path.* **49**, 111—137 (1950).
- Brain metabolism in vivo. II. The distribution of lesions caused by acide, malonitrile, plasmocid and dinitrophenol poisoning in rats. *Arch. Path.* **50**, 545—561 (1950).
- Hirner, A.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur formalen Genese der Balkenläsionen nach experimenteller Cyanvergiftung. *Acta neuropath. (Berl.)* **13**, 350—368 (1969).
- Hurst, E. W.: Experimental demyelination of the CNS, poisoning with potassium cyanide, sodiumazide, hydroxylamine, narcotics, CO etc. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* **20**, 297—312 (1942).
- Klatzo, J.: Neuropathological aspects of brain edema. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **26**, 1—14 (1967).
- Környey, S.: Pattern of CNS vulnerability on CO, cyanide and other poisoning. In: *Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia* (eds.: J. P., Schadé, and W. H. Mc Menemey). Oxford: Blackwell 1963.
- Kolkman, F. W., Ule, G.: Tin poisoning edema. In: *Brain edema. Proc. of the symposium September 11—13. 1965, Vienna*, p. 531—535 (ed. J. Klatzo and F. Seitelberger). Wien-New York: Springer 1967.
- Lampert, P. W.: A comparative electron microscopic study of reactive, degenerating, regenerating and dystrophic axons. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **26**, 345—368, (1967).
- Schochet, S. S.: Electron microscopic observations on experimental spongy degeneration of the cerebellar white matter. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **27**, 210—220 (1968).
- Malamed, S., Recknagel, R. O.: The osmotic behavior of the sucrose in accessible space of mitochondrial pellets from rat liver. *J. biol. Chem.* **234**, 3027—3030 (1959).
- Malhotra, S. K.: A study of structure of the mitochondrial membrane system. *J. Ultrastruct. Res.* **15**, 14—37 (1966).
- Marin, A., Vial, D.: Neuropathological and ultrastructural findings in two cases of subacute spongiform encephalopathy. *Acta neuropath. (Berl.)* **4**, 218—229 (1964).
- Merker, G.: Ultrastrukturveränderungen motorischer Vorderhornzellen des Kaninchens unter abgestufter Ischämie. *Z. Zellforsch.* **95**, 568—593 (1969).
- Miyoshi, K.: Experimental striatal necrosis induced by sodium acide. *Acta neuropath. (Berl.)* **9**, 199—216 (1967).
- Mugnaini, E.: Heliacal filaments in astrocytic mitochondria of the corpus striatum in the rat. *J. Cell Biol.* **23**, 173—182 (1964).
- Pentschew, A.: Intoxikationen. Vergiftung mit Fluoracetat, Natriumazid, Malonitril. In: *Handbuch der speziellen Pathologie Anatomie und Histologie*, Bd. XIII/2b. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

- Rein, H., Kolkman, F. W., Sil, R., Ule, G.: Zur Feinstruktur der INH-Enzephalopathie der Ente. *Klin. Wschr.* **46**, 1060—1061 (1968).
- Richardson, K. C., Janett, L., Finke, E. H.: Embedding in epoxy resins for ultrathinsectioning in electron microscopy. *Stain Technol.* **35**, 313—323 (1960).
- Seitelberger, F.: The problem of status spongiosus. In: Brain edema. Proc. of the Symposium September 11—13, 1965, Vienna (ed. J. Klatzo and F. Seitelberger), p. 152—169. Wien-New York: Springer 1967.
- Sjöstrand, F. S.: The molecular structure of mitochondrial membranes. III. Europ. Conf. Electron Microscopy Prague, 1964, App. 31.
- Sluga, E., Seitelberger, F.: Beitrag zur spongiösen Enzephalopathie. *Acta neuropath. (Berl.)*, Suppl. **3**, 60—72 (1967).
- Ule, G.: Feinstruktur der spongiösen Dystrophie der grauen Substanz. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **52**, 142—152 (1968).
- Kolkman, F. W.: Experimentelle Untersuchungen zur Wernickeschen Enzephalopathie. *Acta neuropath. (Berl.)* **11**, 361—367 (1968).
- — Brambring, P.: Experimentelle Untersuchungen zur formalen Pathogenese der Wernickeschen Enzephalopathie. *Klin. Wschr.* **45**, 886—887 (1967).
- Wegener, K., Kolkman, F. W., Rein, H.: Autohistoradiographische Untersuchungen zur Frage der Bluthirnschrankenfunktion bei experimentell ausgelösten spongiösen Enzephalopathien. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **345**, 352—364 (1968).

Oberarzt Dr. F. W. Kolkman,
R. A. Okpara
Institut für Neuropathologie der Universität
69 Heidelberg, Berliner Straße 5