

Experimentelle histologische und autoradiographische Untersuchungen zur Organisation subduraler Blutungen

B. KREMPIEN

Pathologisches Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. W. Doerr)

Eingegangen am 17. Oktober 1970

Experimental Histological and Autoradiographical Investigations of the Organization of Subdural Hematoma

Summary. The organization of experimental subdural hematoma was studied histologically and autoradiographically (^3H -thymidine) in 200-g Wistar rats within 12 to 264 h of puncture of the sinus sagittalis superior. Typical neomembranes were produced within the first 60 h by fibroblasts proliferating from the inner layer of the dura mater. Subsequently absorption of the hematomas occurred through differentiation of phagocytotic histiocytes. The results indicate that the subdural neomembranes are no specific histological feature of the so-called pachymeningeosis haemorrhagica interna, a concept which therefore is rejected. Instead, the results support the view that the pachymeningeosis haemorrhagica interna represents a subdural hematoma.

Zusammenfassung. Durch Anstich des oberen Längsblutleiters wurde bei der Ratte ein subdurales Hämatom erzeugt und der Ablauf der Organisationsvorgänge histologisch und autoradiographisch (^3H -Thymidin) über einen Zeitraum von 12–264 Std verfolgt. Durch rasche Proliferation der Duradeckzellen mit Faserbildung entstehen innerhalb der ersten 60 Std typische Neomembranen. Neben der Membranbildung kommt es zu Differenzierung phagocytierender Histiocyten und zur Resorption der Blutungen. Die experimentell gewonnenen Befunde zeigen, daß der histologische Nachweis von Neomembranen kein histologisches Kriterium einer idiopathischen Pachymeningeosis haemorrhagica interna darstellt. Sie stützen die Ansicht, daß die sog. Pachymeningeosis haemorrhagica interna ein chronisches Subduralhämatom ist und beide Begriffe einander gleichgesetzt werden müssen.

In einer vorausgegangenen histopathologischen Untersuchung zur Organisation subduraler Hämatome beim Menschen hatte sich zeigen lassen, daß zwischen dem „chronischen Subduralhämatom“ und der „idiopathischen Pachymeningeosis haemorrhagica interna“ (P.h.i.) ein grundsätzlicher Unterschied von morphologischer Seite nicht erkennbar ist, beide Begriffe vielmehr einander gleichgesetzt und als Folge einer subduralen Blutung angesehen werden müssen (Krempien, 1969). Im Verlauf unserer Untersuchungen hatte sich indessen ergeben, daß die initialen Organisationsvorgänge bislang nur ungenügend bestimmt worden sind. Da gerade sie für die Entstehung sog. Neomembranen wichtig sind, haben wir versucht, den Beginn der Organisation an experimentell gesetzten subduralen Blutungen zu klären.

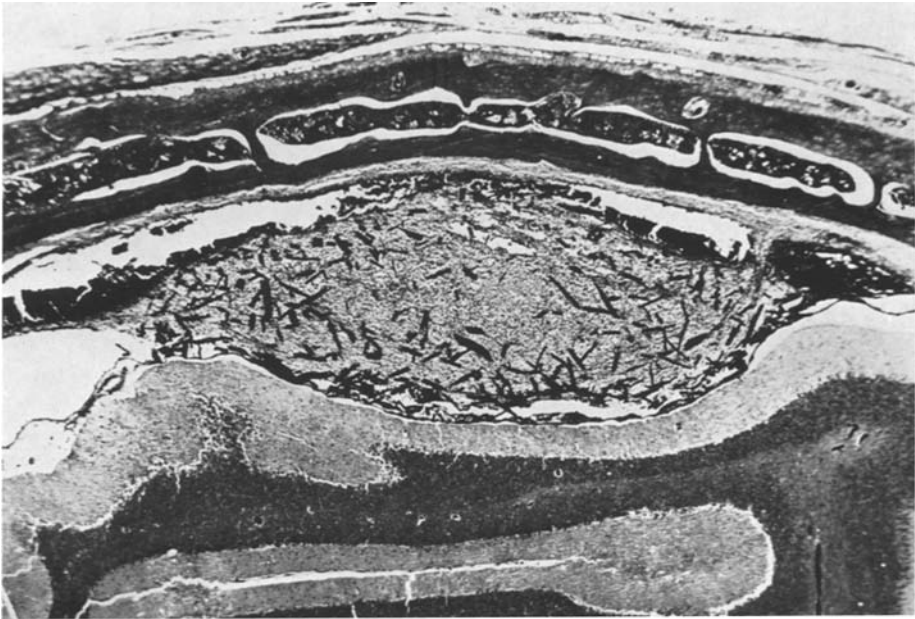


Abb. 1. Größere subdurale Blutung mit deutlicher Kompression des Gehirnes 48 Std nach Versuchsbeginn. Beginnende Kapselbildung. Zwischen den Erythrocyten Knochenspäne aus dem Bohrkanal. Mikrophotogramm. Vergr. 1:8,75 MG

Material und Methoden

Bei 200 g schweren weißen Wistar-Ratten wurde in Höhe der Kreuznaht ein seitliches Bohrloch in der Calvarie angelegt und der obere Längsblutleiter durch eine transcerebral eingeführte scharfgeschliffene Kanüle angestochen. Die Entwicklung einer subduralen Blutung ließ sich durch das dünnwandige Schädeldach hindurch kontrollieren. Je 2 Tiere wurden in Abständen von 12 Std 12–264 Std nach Versuchsbeginn durch Äthernarkose getötet. 1 Std vor dem Tode erhielt jedes Tier eine intraperitoneale Injektion von 200 Mikro-Ci ^3H -Thymidin. 7 gleichschwere Tiere dienten als Kontrollen. Die Calvarien wurden mit der Schere nahe der Schädelbasis abgetrennt und in neutralem Formalin fixiert. Das Gehirn wurde in der Calvarie belassen. Nach ÄDTA-Entkalkung und Paraplasteinbettung wurden 5 μ dicke Schnitte mit Kodak-Stripping-Film 3 Wochen lang bei 4° C exponiert und nach Entwicklung durch den Film hindurch mit Hämalaun gefärbt. Auf eine statistische Sicherung des ^3H -Index wurde verzichtet, da die Tierzahl dafür zu gering war. Die histologischen Schnitte wurden mit der Trichromfärbung nach Masson-Goldner, der Obadiah-Färbung nach Lendrum, mit HE und nach der Turnbull-Blau-Methode gefärbt.

Befunde

12 Std nach Versuchsbeginn ist die Dura mater im Bereich subduraler Blutungen gelockert und geringgradig disseziiert. Die Deckzellen sind vergrößert und haben sich etwas von der Duraoberfläche abgehoben. Die subduralen Blutungen wölben sich z.T. linsenförmig unter Kompression des Gehirnes gegen die Hirnoberfläche vor (Abb. 1) oder sie breiten sich als schmaler, nicht raumfordernder Blutfilm im leicht entfalteten Subduralraum aus (Abb. 2b). An der inneren hirn-

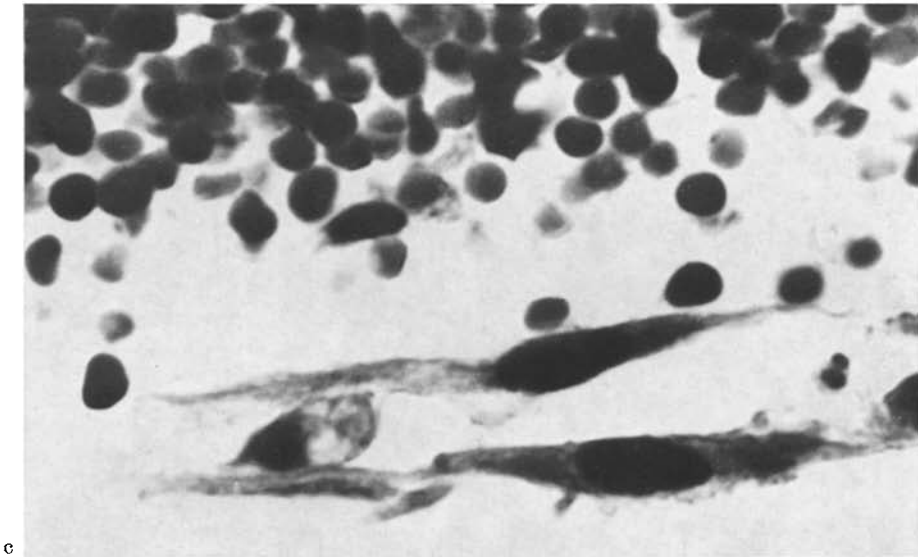
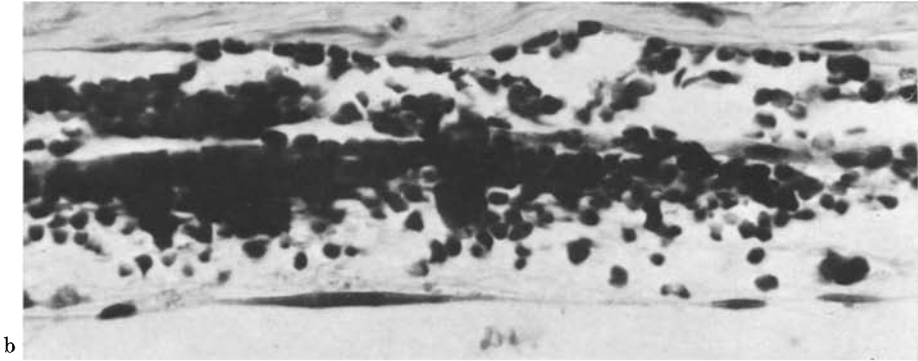
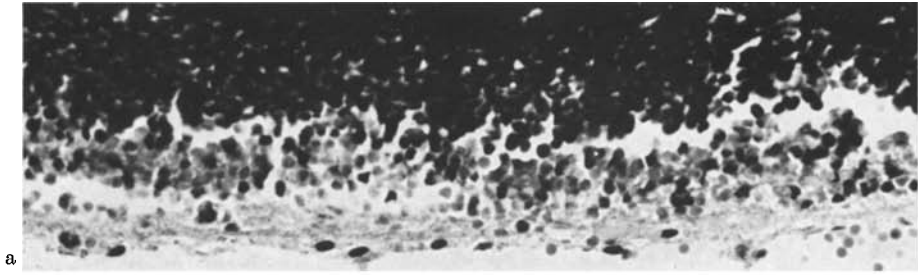


Abb. 2a—c. Mikrophotogramme (MG). a Initiale Fibrinkapsel an der inneren Oberfläche einer Blutung 24 Std nach Versuchsbeginn. Vergr. 1:87,5. b Schmale subdurale Blutung mit beginnender Kapselbildung durch Fibroblasten 48 Std nach Versuchsbeginn. Vergr. 1:525. c proliferierende Fibroblasten aus einer Neomembran. Oelimmersion. Vergr. 1:875

Abb. 3a—c. Mikrophotogramme (MG). a Schmale, von Faserzügen durchsetzte subdurale Blutung mit Fibroblasten und ersten Histiozyten 48 Std nach Versuchsbeginn. Vergr. 1:90. b Lockere, der Durainnenfläche (oben) aufgelagerte Neomembran aus Fibroblasten und phagocytierenden Histiozyten 90 Std nach Versuchsbeginn. Vergr. 1:337,5. c faserreiche, im Vergleich zur Dura mater (oben) deutlich dichter strukturierte Neomembran mit geringem Zellgehalt 180 Std nach Versuchsbeginn. Vergr. 1:75

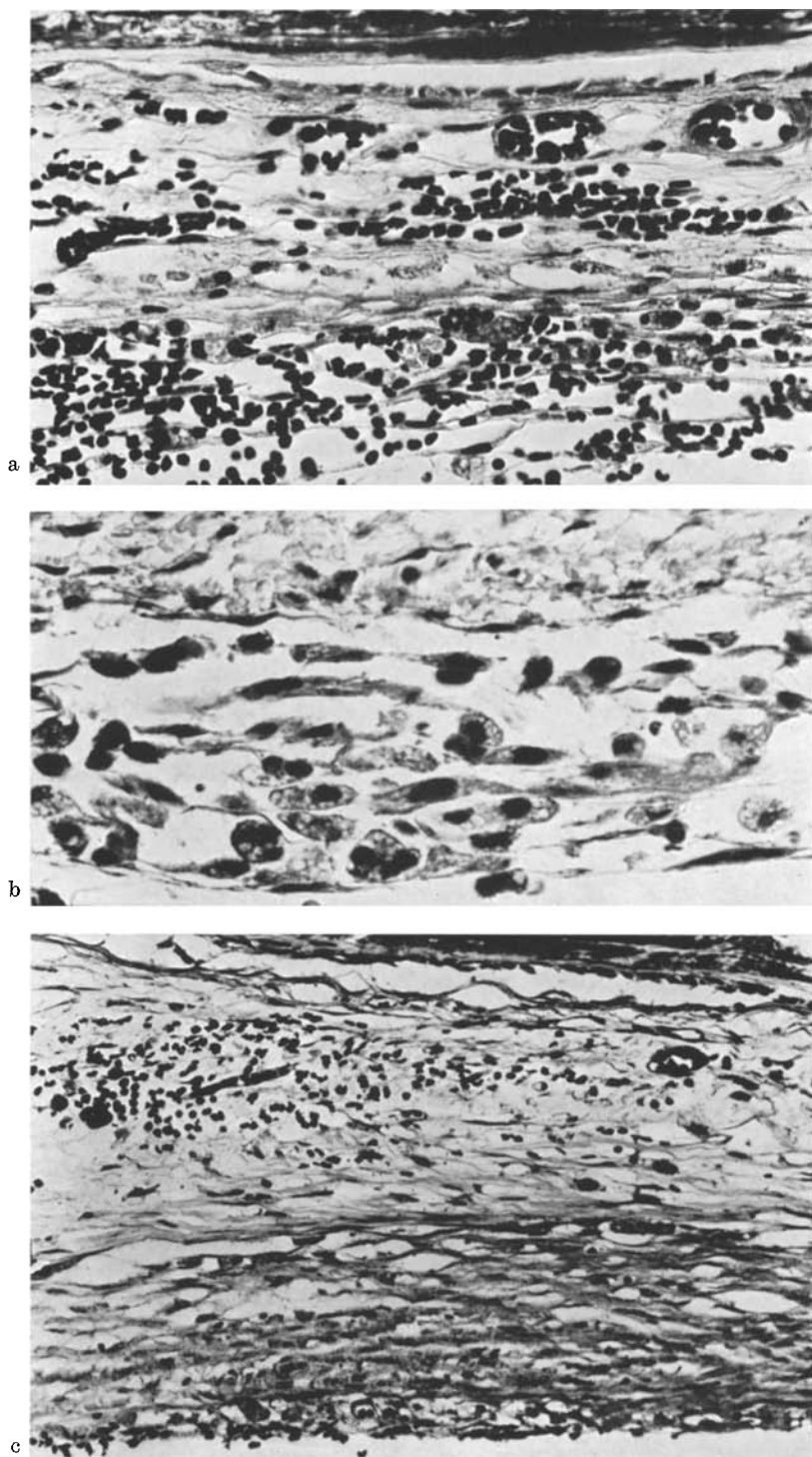


Abb. 3a—c

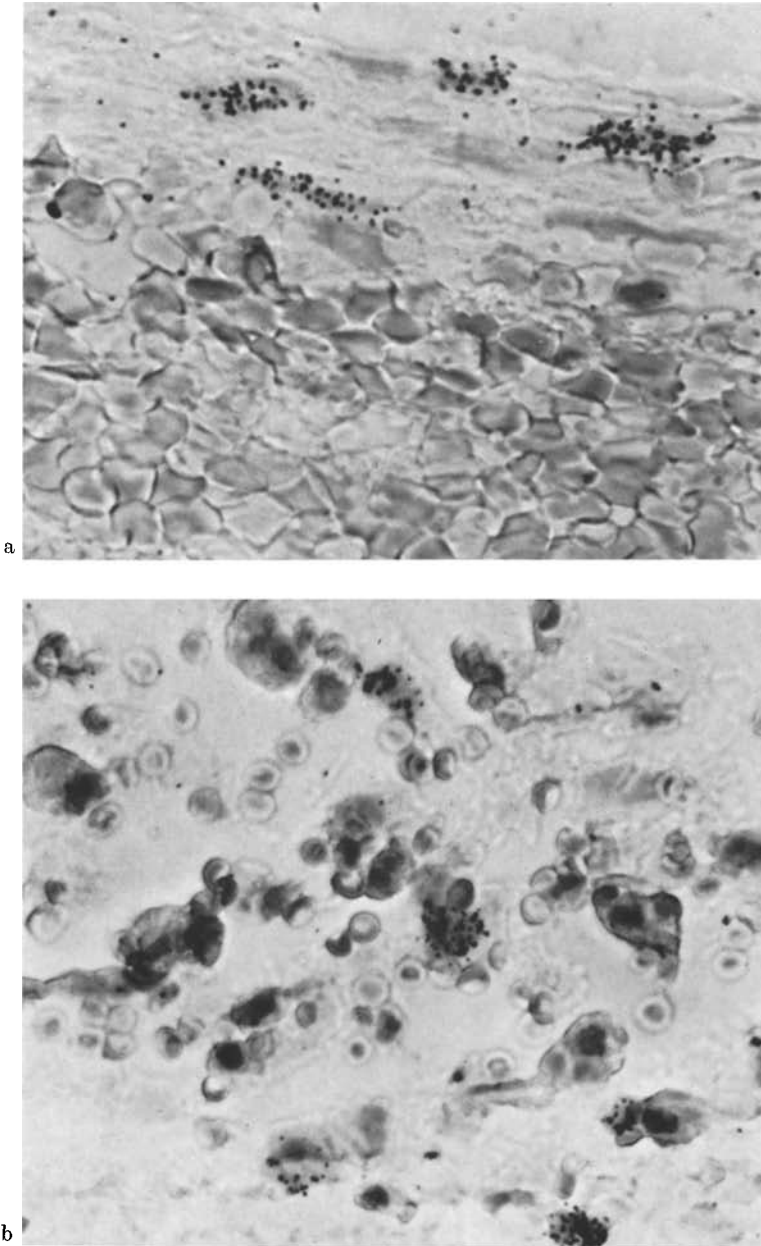


Abb. 4a u. b. Mikrophotogramme. Hämalaun. a Autoradiogramm der Dura mater mit mehreren kräftig markierten Fibroblasten an der Duraoberfläche 48 Std nach Versuchsbeginn. Oelimmersion. Vergr. 1:875. b Subdurale Blutung mit einzelnen markierten Zellen zwischen den Erythrocyten. Oelimmersion. Vergr. 1:875

wärtigen Oberfläche der Blutungen liegt ein zarter, anfänglich zellfreier Fibrin-film (Abb. 2a). 48 Std nach Versuchsbeginn entwickeln sich daraus durch von der Seite her einwandernde, auffallend große und langgestreckte, faserbildende Fibroblasten zarte Membranen (Abb. 2b und c). Hinter dieser, von der Seite her die Blutungen umgreifenden Kapselbildung tritt eine Organisation größerer Blutungen durch eine von der Durafläche her ausgehende Zellproliferation deutlich zurück. Lediglich im Bereich von Fibringerinnenseln wird auch in den Hämatomen eine Zellproliferation und Faserbildung erkennbar. Schmale subdurale Blutfilme werden hingegen rasch von einem dichten Zell- und Fasernetz durchzogen (Abb. 3a). 48 Std nach Versuchsbeginn treten mit zunehmender Zellproliferation auch größere Histiocyten und Reticulocyten, z.T. beladen mit den Resten phagocytierter Erythrocyten in Erscheinung (Abb. 3b). Hämosiderinpigment läßt sich mit der Turnbull-Blau-Methode mit Sicherheit erst nach 90 Std nachweisen. 120 Std nach Versuchsbeginn findet sich allgemein eine beträchtliche Verbreiterung der Dura durch eine Zell- und Faservermehrung (Abb. 3c). Diese Veränderungen sind im Fortgang des Versuches rückläufig. Am Versuchsende resultiert eine mäßige Verdickung und Sklerose der Dura mit geringem Zellgehalt und geringgradiger Hämosiderinpigmentation. Abgekapselte Hämatome persistieren nur in geringen Resten.

In den Autoradiogrammen lassen sich markierte Zellen bereits nach 12 Std nachweisen. Sie fehlen in der Dura der Kontrolltiere. Ihre Zahl erreicht 48 Std nach Versuchsbeginn einen Höhepunkt, um erst nach 100 Std allmählich, nach 200 Std rasch abzufallen. Bei den letzten, 264 Std nach Blutungsbeginn getöteten Tieren finden sich nur noch vereinzelt markierte Zellen. Die mit ^3H -Thymin markierten Zellen liegen anfänglich vor allem an der Duraoberfläche (Abb. 4a) und zwischen ihren Fasern, später auch in den Neomembranen. In größeren Hämatomen weisen auch zwischen den Erythrocyten liegende histiocytäre Zellen eine Silberkornmarkierung auf (Abb. 4b).

Während die zelluläre Proliferation der Dura mater außerordentlich lebhaft ist, kommt es bis zu Versuchsende weder im Bereich der Dura noch in den Neomembranen zu einer nennenswerten Gefäßneubildung. Eine Beteiligung der Arachnoidea an den Organisationsvorgängen ist nicht erkennbar.

Erörterung der Befunde

Eine Klärung der initial in subduralen Blutungen ablaufenden Organisationsvorgänge ist exakt nur an experimentell gesetzten Blutungen möglich. Ihre Kenntnis ist aus einer Reihe von Gründen wichtig. Da die aus dem Obduktionsgut oder durch Operation zur Untersuchung gelangenden Subduralhämatome in der Regel frische, noch organisationsfreie Blutungen oder aber bereits ältere und in ihrem Alter nur sehr ungenau zu bestimmende Prozesse darstellen, ist die Entwicklung sog. Neomembranen in ihren Anfängen bislang weitgehend ungeklärt geblieben. Das Problem ihrer formalen Pathogenese rührt eng an das Problem einer idiopathischen P.h.i. Es läßt sich ohne eine Kenntnis aller Organisations-schritte nicht überzeugend lösen (Verh. dtsch. Ges. Path. 43, 1959). Letztere ist auch für die schwierige, rechtlich oft wichtige Frage nach einer Alters-

bestimmung der Membranen von Bedeutung. Ziel dieser Untersuchungen war es nicht, experimentell ein chronisches Subduralhämatom zu reproduzieren.

Die mitgeteilten Befunde zeigen, daß die Organisation subduraler Blutungen — ähnlich wie beim Menschen (Christensen and Husby, 1963; Jellinger, 1969; Krempien, 1969) — auch bei der Ratte primär von den Deckzellen der Dura mater getragen wird. Schon wenige Stunden nach Blutungseintritt lassen sie eine Vergrößerung und Mobilisation erkennen. 48 Std nach Versuchsbeginn hat die zelluläre Proliferation, an der jetzt auch die zwischen den Fasern der Dura liegenden Zellen teilnehmen, bereits ihren Höhepunkt erreicht. Die sonst zarte und zellarme Dura erlangt gegen Versuchsmitte ein Vielfaches ihrer normalen Stärke (Abb. 3a—c). Am Ende des Versuches, 264 Std nach Eintritt der Blutungen sind autoradiographisch kaum noch Zellteilungen nachweisbar. Die Zellen der Dura weisen sich damit als proliferationstüchtige und zugleich zu einer starken Faserbildung befähigte Zellen nach Art von Fibroblasten aus. Gleichzeitig kommt es als Ausdruck resorptiver Vorgänge zu einer Differenzierung reticulo- und histiocytärer phagocytierender Elemente (Abb. 3a und b). Sie können sich aus dem Zellverband der Dura mater lösen, in die Hämatome übertreten und sich — wie die Autoradiographie erkennen läßt (Abb. 4b) — dort weiter teilen. Weissbach (1967) hat derartige Zellen durch Punktion aus dem Inhalt kindlicher subduraler Ergüsse dargestellt. Auch die von ihm beschriebenen Erythrocytophagen haben sich bei der Ratte schon nach 48 Std in großer Zahl gefunden (Abb. 3b). Die Dura mater enthält somit undifferenzierte und pluripotente Zellen, die in ungereiztem Zustande kaum erkennbar sind, auf den Reiz einer subduralen Extravasation hin aber mit einer beträchtlichen Proliferation und einer unterschiedlichen Differenzierung reagieren.

Schon 60 Std nach Versuchsbeginn stellen sich zarte Neomembranen dar (Abb. 2b und c). Sie führen zu einer rasch fortschreitenden Kapselbildung mit Einschluß der größeren Hämatome. Diese Befunde zeigen — in Bestätigung früherer Untersuchungen an menschlichen Subduralhämatomen (Krempien, 1969) —, daß die Bildung derartiger Neomembranen kein spezifisches histologisches Kriterium einer „idiopathischen P.h.i.“ sein kann, sondern regelhaft bei der Organisation subduraler Extravasationen auftritt. Büchner (1959) und Doerr (1959) haben auf die Schwierigkeit hingewiesen, ältere Neomembranen beim Menschen von der hirnwärtigen Lage der Durainnenschicht histologisch zu unterscheiden. Es ist deshalb notwendig, die Pathogenese derartiger Neomembranen gerade in ihren initialen Schritten zu klären. Mit dem Auftreten von Neomembranen muß im Ablauf der Organisation subduraler Blutungen schon frühzeitig gerechnet werden. Die experimentellen Befunde lassen daran keinen Zweifel. Dabei ist es gleichgültig, ob eine subdurale Extravasation traumatisch oder infolge einer allgemeinen oder lokalen Hämostasestörung entsteht (Jellinger, 1969; Krempien, 1969, 1970). Gegen Versuchsende erfahren Faserbildung und zelluläre Proliferation einen raschen Rückgang. Es resultiert — von wenigen größeren Hämatomen abgesehen — eine zellarme Sklerose der Dura mater mit geringgradiger Verdickung.

Die Membranbildung folgt offenkundig einem frühzeitig an der inneren Hämatomoberfläche sich abscheidenden Fibrinfilz (Abb. 2a). Da nur stabilisiertes Fibrin eine morphogenetische Potenz besitzt (Beck et al., 1962), haben Weber

et al. (1964, 1969) in Fortführung früherer Untersuchungen von Zehnder (1947) das Ausbleiben nennenswerter organisatorischer Vorgänge im Inneren größerer Subduralhämatome auf Grund ihrer gerinnungsanalytischen Befunde auf eine sekundäre, zu einem Mangel an stabilisiertem Fibrin führende Fibrinolyse bezogen. Eigene histochemische Untersuchungen an menschlichen Subduralhämatomen weisen in gleiche Richtung. Die Befunde an experimentell gesetzten Subduralblutungen bei der Ratte stimmen damit insoweit überein, als größere Blutungen abgekapselt werden, histochemisch kein oder nur sehr wenig Fibrin aufweisen und bis zu Versuchsende ohne nennenswerte organisatorische Veränderungen persistieren. Es muß dahingestellt bleiben, ob sich darin bereits eine sekundäre, an das fibrinolytische Potential der Dura und der Membranen gebundene Fibrinolyse kundtut. Zarte filmartige Blutungen werden im Gegensatz dazu rasch von Faserzügen durchsetzt und durch phagocytierende Zellen resorbiert (Abb. 3a—c). Der Ablauf der Organisationsvorgänge in subduralen Blutungen läßt damit 2 Vorgänge unterscheiden: einmal eine Proliferation von Fibroblasten mit Faserbildung und Entstehung typischer Neomembranen, zum anderen eine Differenzierung phagocytierender Zellen mit Resorption der subduralen Extravasation.

Auffallend ist, daß es trotz einer beträchtlichen zellulären Proliferation bis zum Versuchsende weder im Bereich der Dura mater noch in den Neomembranen zu einer nennenswerten Gefäßneubildung kommt. Die Entwicklung reich vascularisierter Membranen ist für die Organisation subduraler Extravasationen beim Menschen typisch (Christensen, 1944; Krauland, 1961; Jellinger, 1969). Indessen sind auch beim Menschen die Neomembranen anfänglich gefäßfrei; sie werden erst allmählich durch Gefäße, die aus dem inneren Capillarplexus der Dura aussprossen, vascularisiert (Krempien, 1969). Untersuchungen an Neomembranen unterschiedlichen Alters lassen daran keinen Zweifel. Daraus folgt, daß eine Neomembran nicht die primäre Blutungsquelle eines subduralen Hämatomes sein kann. Die Frage, ob die Dauer des in Rede stehenden Versuches für eine Gefäßneubildung zu kurz bemessen war, oder ob Speziesunterschiede eine Rolle spielen und hierin vielleicht ein Grund dafür zu suchen ist, warum es tierexperimentell bislang nicht überzeugend gelungen ist, ein chronisches Subduralhämatom zu erzeugen (Christensen, 1944; Goodell and Mealey, 1963; Hoff und Tschabitscher, 1967), müssen weitere Untersuchungen klären. Ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß einer Gefäßneubildung und der Entwicklung chronischer und progredienter Subduralhämatome wäre denkbar, da Diffusionsvorgänge und Rezidivblutungen aus den vascularisierten Membranen in das Innere abgekapselter Hämatome erwiesen sind (Weber et al., 1964). Die Ergebnisse dieser Untersuchung stützen die Ansicht, daß die sog. P.h.i. keine idiopathische Erkrankung der Dura, sondern Folge einer subduralen Blutung ist und mit dem Begriff eines chronischen Subduralhämatomes gleichgesetzt werden muß.

Literatur

- Beck, E., Duckert, F., Vogel, A., Ernst, M.: Der Einfluß des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) auf Funktion und Morphologie von Fibroblasten in vitro. *Z. Zellforsch.* **57**, 327—346 (1962).
- Büchner, F.: Aussprache zum Referat von Wepler. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **43**, 155 (1959).

- Christensen, E.: Studies in chronic subdural hematoma. *Acta psychiat. scand.* **19**, 69—148 (1944).
- Husby, J.: Chronical subdural hematoma in infancy. *Acta neurol. scand.* **39**, 323—342 (1963).
- Doerr, W.: Aussprache zum Referat von Wepler. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **43**, 155 (1955).
- Goodell, C. L., Mealey, J., Jr.: Pathogenesis of chronic subdural hematoma. *Experimental studies. Arch. Neurol.* **8**, 429—437 (1963).
- Hoff, H., Tschabitscher, H.: Die intracraniellen extracerebralen Blutungen. *Med. Klin.* **48**, 1317—1322 (1967).
- Jellinger, K.: Zur Morphologie der kindlichen subduralen Ergüsse und Hämatome. *Z. Kinderchir.* **7**, 9—21 (1969).
- Krauland, W.: Histologische Untersuchungen zur traumatischen Genese der sogenannten Pachymeningitis haemorrhagica interna. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **43**, 337—369 (1954).
- Über die Quellen des akuten und chronischen subduralen Hämatoms. Stuttgart: G. Thieme 1961.
- Krempien, B.: Zur Organisation subduraler Hämatome. Zugleich ein Beitrag zur sog. idiopathischen Pachymeningeosis haemorrhagica interna. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **347**, 129—142 (1969).
- Durahygom bei Carcinose der harten Hirnhaut. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **113**, 409—414 (1970).
- Weber, G.: Das chronische Subduralhämatom. *Schweiz. med. Wschr.* **99**, 1483—1488 (1969).
- Rosemund, H., Duckert, F.: Der Inhalt chronischer Subduralhämatome von Erwachsenen und subduralen Hygromen und Ergüssen von Kindern. *Schweiz. Arch. Neurol. Psychiat.* **95**, 348—371 (1964).
- Weissbach, G.: Cytologie der subduralen Ergüsse des Kindesalters. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **191**, 291—321 (1967).
- Zehnder, M.: Flüssiges Blut durch Thrombolyse in doppelt unterbundenen Gefäßstrecken. *Helv. chir. Acta* **15**, 162—180 (1947).

Dr. med. B. Krempien
Pathologisches Institut der Universität
BRD-6900 Heidelberg, Berliner Straße 5
Deutschland