

Aus der Neurochirurgischen Universitätsklinik (Direktor: Prof. Dr. *F. Loew*) und der Elektronenmikroskopischen Abteilung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. *H. Nemetschek-Gansler*) der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes Homburg/Saar

Phasenkontrast- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Wirkung des Harnstoffs auf das Gehirn* **

Von

H. Nemetschek-Gansler, F. Loew und H. R. Plogsties

Mit 8 Textabbildungen

Einleitung

Die Wirkung hypertotonischer Harnstofflösungen ist seit den tierexperimentellen Untersuchungen von *Hertel* (1914)⁶ sowie *Fremont-Smith* und *Forbes* (1927)³ bekannt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen blieben klinisch jedoch unverwertet, bis *Javid* und Mitarbeiter 1954 Harnstoff erstmalig am Menschen anwandten. Wie seither von den grundlegenden Arbeiten von *Javid* und Mitarbeitern^{4, 8, 9, 10, 11} sowie den Berichten anderer Autoren^{1, 5, 12, 16} bekannt ist, führt die intravenöse Zufuhr hypertotonischer Harnstofflösungen neben einer Senkung des intrakraniellen Druckes zu einer auffälligen Schrumpfung des Gehirns.

Während zahlreiche Arbeiten die klinischen und physiologischen Probleme der Harnstoffanwendung behandeln, liegen unseres Wissens, abgesehen von einzelnen Mitteilungen über Untersuchungen an tierexperimentell gewonnenem Material^{13, 14}, bisher keine morphologischen Untersuchungen über die Veränderungen vor, die das menschliche Gehirn unter der Einwirkung des Harnstoffs erleidet. In der vorliegenden Arbeit haben wir den Strukturwandel des Gehirngewebes im Phasenkontrast- und im elektronenmikroskopischen Bild verglichen.

Eigene Beobachtungen

Von insgesamt 18 Patienten, die wegen verschiedener cerebraler Gliome und anderer intracranieller Prozesse zur Operation kamen, wurden 1 bis 2 mm³ große Stücke von Großhirnrinde und Mark untersucht. In den Fällen, in denen ein cerebrales Gliom vorlag, wurde das Gewebe in Tumornähe

* Vortrag, gehalten auf dem 2. Europäischen Neurochirurgenkongreß, Rom, 18. bis 20. April 1963.

** Herrn Prof. Dr. Dr. med. h. c. *H. Spatz* zum 75. Geburtstag gewidmet.

entnommen. Das Material wurde lebensfrisch etwa 1 Stunde nach Operationsbeginn gewonnen und sofort im Operationsaal bei 4° in einer isotonischen gepufferten (pH 7,2) OsO₄-Lösung nach *Caulfield* fixiert.

Das Material stammte von solchen Patienten, die unter üblichen Narkosebedingungen operiert wurden, und solchen, die während der Operation eine Harnstoffinfusion zur Entwässerung erhalten hatten, und zwar 1 g Harnstoff pro Kilogramm Körpergewicht.

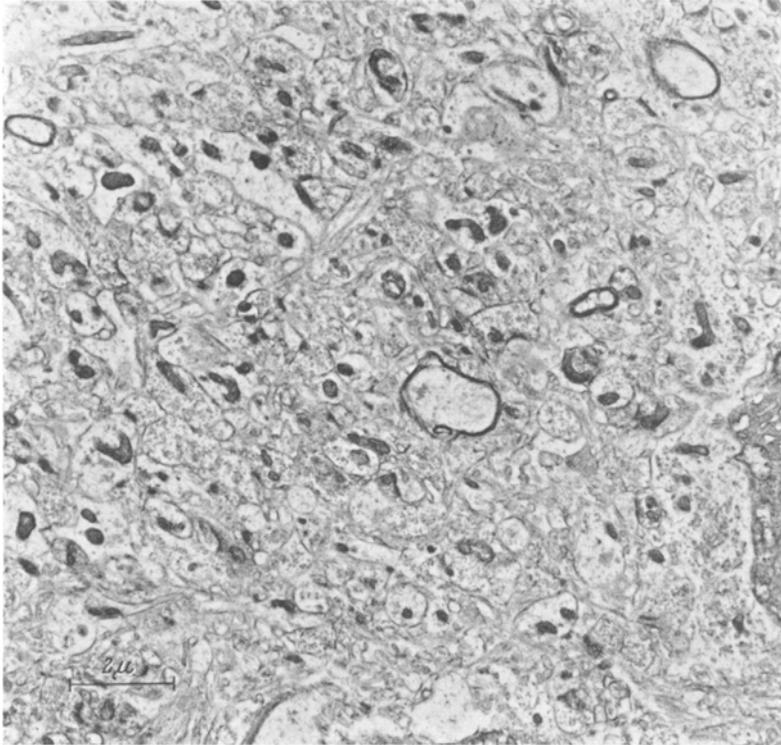


Abb. 1.

Zum besseren Vergleich wurde das gesamte Material in 4 Gruppen eingeteilt.

Die *1. Gruppe* umfaßt 4 Patienten, bei denen normale Großhirnrinde unter Harnstoffeinwirkung untersucht wurde. Die Patienten wurden wegen einer Arachnitis optico-chiasmatica, einer Temporallappenepilepsie, einer Liquorfistel und eines Aneurysmas der Arteria carotis interna operiert.

In allen Fällen fällt zwar schon im phasenkontrastmikroskopischen Bild ein gewisser Unterschied zu den „normalen“ Hirnrinden auf, der jedoch erst mit dem elektronenmikroskopischen Auflösungsvermögen gut zur Darstellung kommt. Schon bei schwacher Vergrößerung kann man die größere

Dichte des Neuropils erkennen (Abb. 1), das vor allem die feineren und feinsten Fortsätze der Nerven- und Gliazellen betrifft. In Abb. 2 ist bei gleicher Vergrößerung ein entsprechender Ausschnitt aus einer normalen Rinde ohne Harnstoff wiedergegeben (Gruppe IV). Die Oligodendrogliazellen sind unter Harnstoff dichter und kleiner, während die Astroglia unverändert erscheint. Die Arteriolen und Capillaren sind allseitig von Glia-

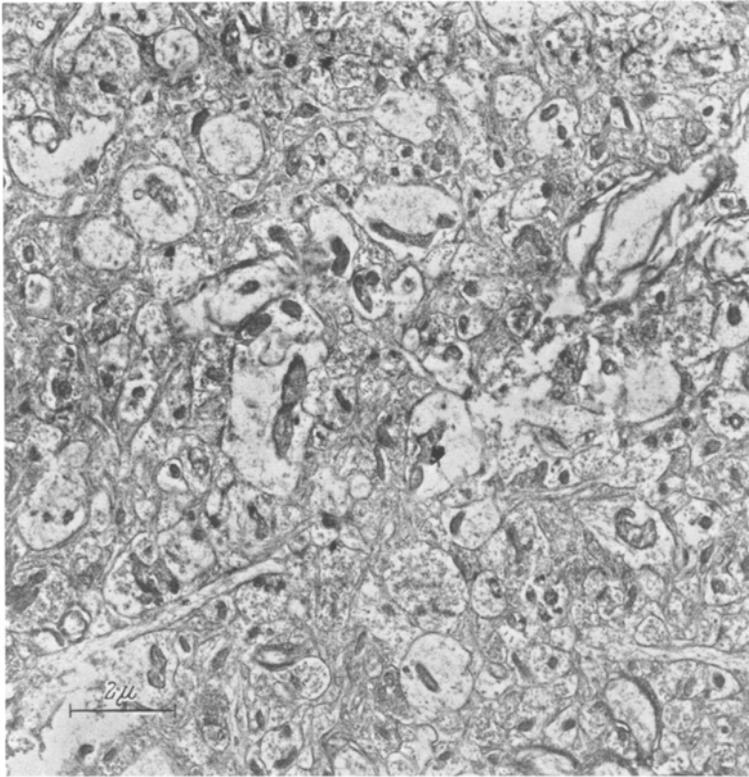


Abb. 2.

Abb. 1 und 2. *Ausschnitt aus dem Neuropil normaler Großhirnrinde mit und ohne Harnstoff.* Unter Harnstoff (Abb. 1) kommen, abgesehen von einigen größeren Axonen und Astrogliafortsätzen, nur sehr feine Gliafortsätze zur Darstellung, während in Abb. 2 ohne Harnstoff das Neuropil spongioser erscheint. Vergr.: El. opt. 2500fach, Arch.-Nr. 965/63. Abb. 7500fach, Arch.-Nr. 1192/63.

fortsätzen, vorwiegend solchen der Astrocyten, umgeben. Perivasculäre Räume sind nicht vorhanden.

In einem Fall konnten wir stellenweise kleinste capilläre Blutungen beobachten (Abb. 3), die als Diapedesisblutungen zu deuten sein dürften. Ihre Entstehung erklären wir so, daß durch den harnstoffbedingten Unter-



Abb. 3. Capillare (mit Harnstoff entwässerte Großhirnrinde) mit extravasal gelegenen Erythrocyten und einem Granulocyt. GZ Granulocyt. Vergr.: El. opt. 5000fach, Abb. 10.000fach, Arch.-Nr. 2093/62.

druck Erythrocyten zwischen den Endothelzellen hindurch in den Extrazellularraum gelangten.

Außer der Oligodendroglia ist auch die marginale Glia an den Veränderungen beteiligt, und zwar ist ihre Oberfläche als Zeichen der Schrumpfung stark gefaltet.

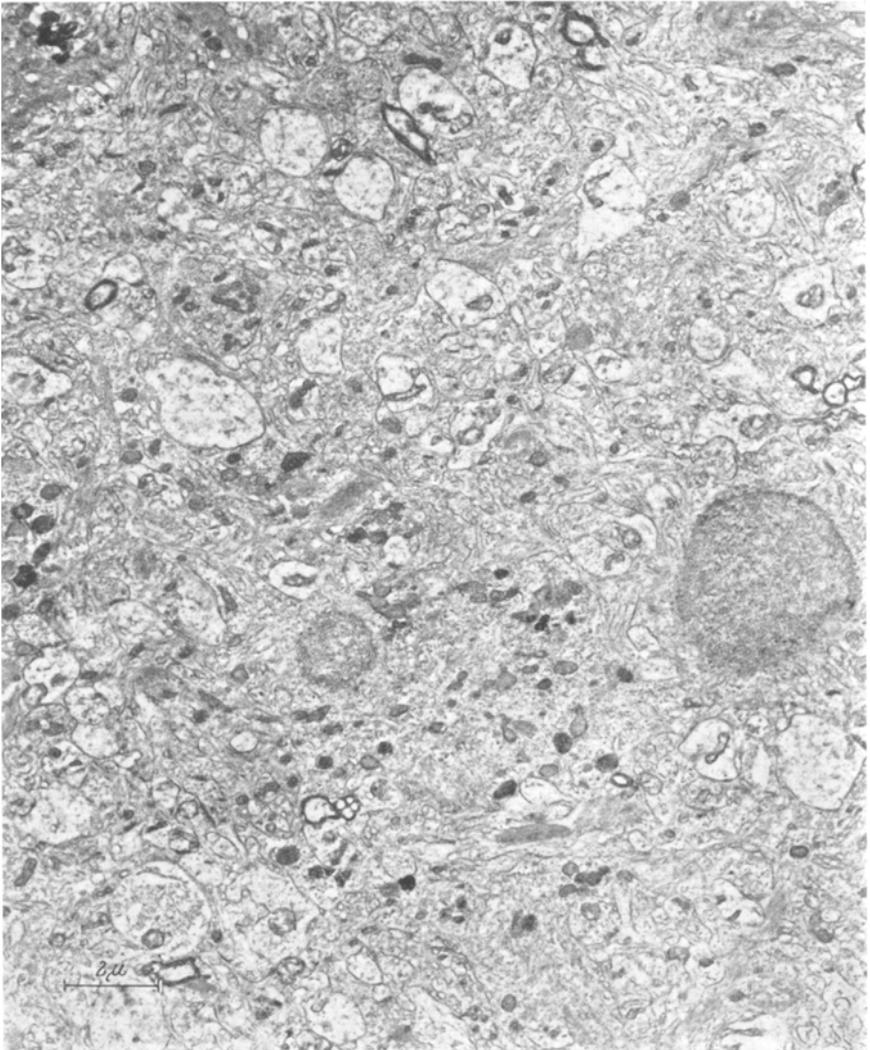


Abb. 4. Großhirnrindenausschnitt von einem Patienten mit Hirntumor, mit Harnstoff entwässert. Das Neuropil erscheint noch kompakter als in Abb. 1. Im mittleren Bildteil zwei kleine dichte Oligodendrogliazellen. Vergr.: El. opt. 2500fach. Abb. 7500fach. Arch.-Nr. 1369/62.

In einem Fall war das gesamte Rindengewebe etwas weniger kompakt als in den übrigen Fällen, ein Befund, der gut mit der Klinik übereinstimmte, da in diesem Fall unter der Operation das Gehirn auch makroskopisch nicht wesentlich geschrumpft war.

In der 2. Gruppe haben wir 10 Patienten mit verschiedenen cerebralen Gliomen zusammengefaßt, die Harnstoff erhalten hatten. Noch deutlicher

als bei der 1. Gruppe tritt eine Verdichtung der Hirnrinde bzw. des Neuropils in Erscheinung (Abb. 4). Abgesehen von einigen Axon-Anschnitten sehen wir ein so dichtes Gewirr von Cytoplasma und Membranen, daß einzelne

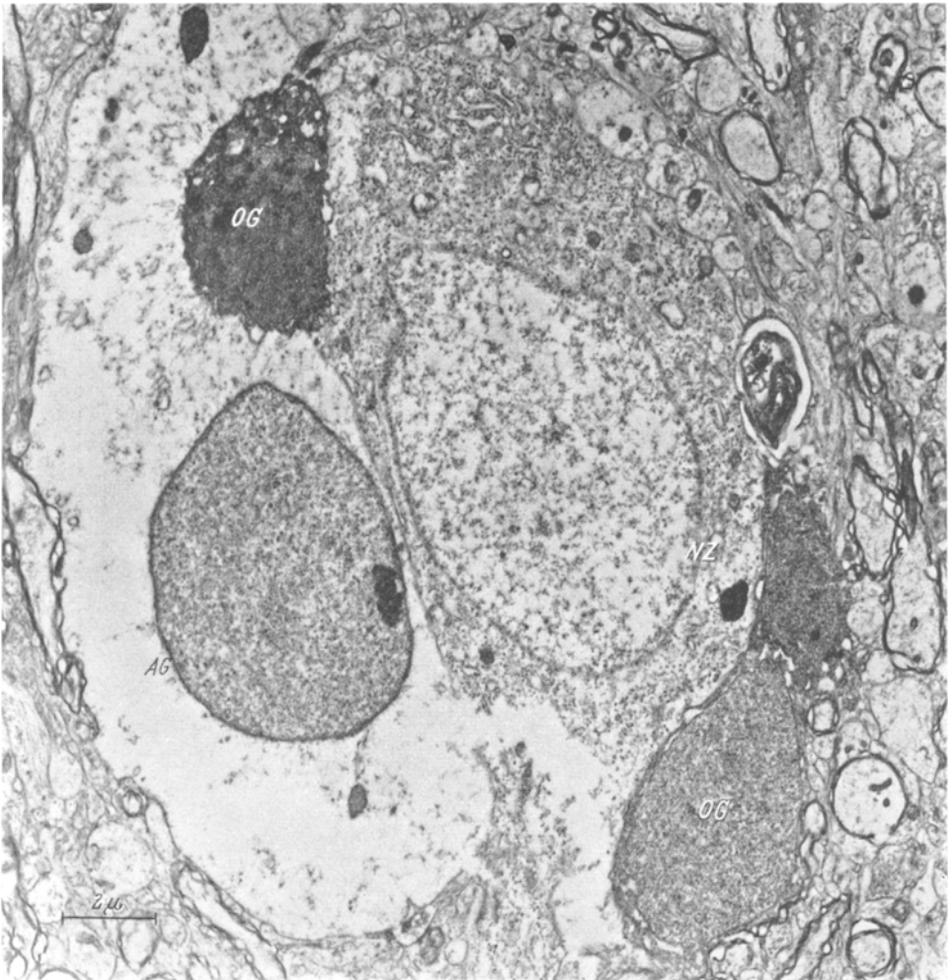


Abb. 5. Großhirnrindenausschnitt von einem Patienten mit Hirntumor, mit Harnstoff entwässert. Das Bild zeigt einen geschwollenen Astrocyten, daneben kleine dichte Oligodendroglia. AG Astroglia. OG Oligodendroglia. NZ Nervenzelle. Vergr.: El. opt. 2500fach. Abb. 7500fach, Arch.-Nr. 1438/63.

Fortsätze kaum noch gegeneinander abzugrenzen sind. Auch die Oligodendroglia ist durch ein sehr dichtes Cyto- und Caryoplasma ausgezeichnet. Zum Unterschied hierzu ist die Astroglia eher ödematös verändert (Abb. 5).

Sowohl in den Glia- als auch in den Nervenzellen sind Lysosomen in unterschiedlicher Menge zu erkennen (Abb. 6), über deren Bedeutung noch keine Aussage gemacht werden kann.

Zum Unterschied von der 1. Gruppe sind bei dieser Gruppe bereits im Phasenkontrastmikroskop vereinzelte perivaskuläre Räume zu erkennen. Jedoch kann nicht entschieden werden, ob es sich um geschwollene Gliafort-

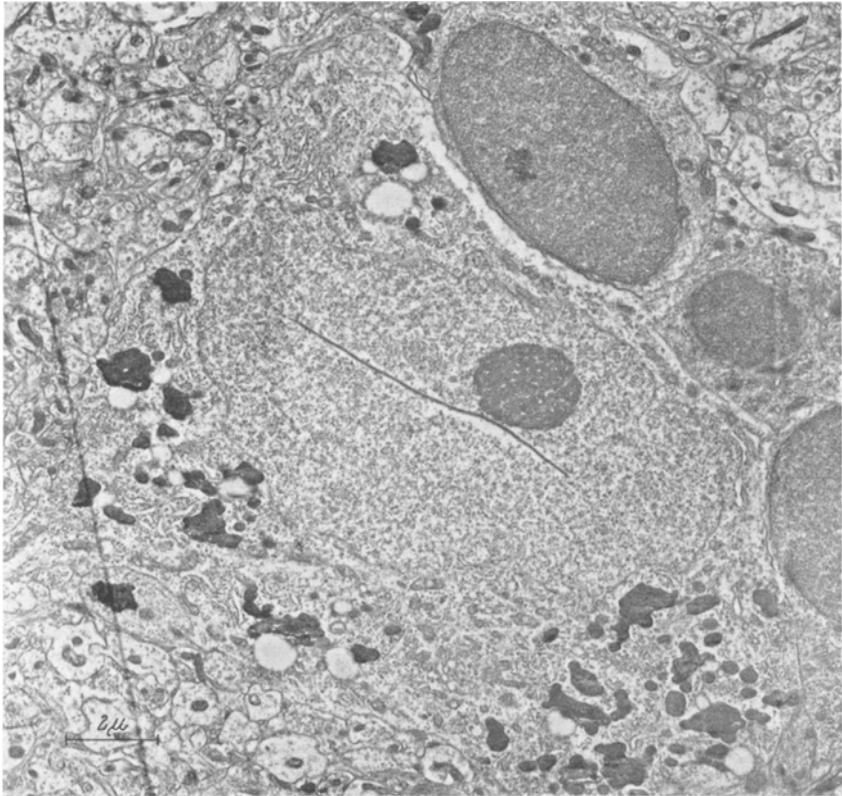


Abb. 6. Großhirnrindenausschnitt von einem Patienten mit Hirntumor, mit Harnstoff entwässert. Man sieht eine Nervenzelle mit zahlreichen Lysosomen. Im Bild rechts drei dunkle Oligodendrogliazellen. Vergr.: El. opt. 2500fach. Abb. 7500fach, Arch.-Nr. 1193/63.

sätze handelt oder ob tatsächlich mit extrazellulärer Flüssigkeit angefüllte perivaskuläre Räume vorliegen. Erst das elektronenmikroskopische Bild (Abb. 7) zeigt, daß es sich um ein perivaskuläres Ödem handelt; wahrscheinlich entstehen solche Exsudate durch eine Ruptur von gequollenen perivaskulären Astrocytenfortsätzen bei starken ödematösen Veränderungen des Hirngewebes.

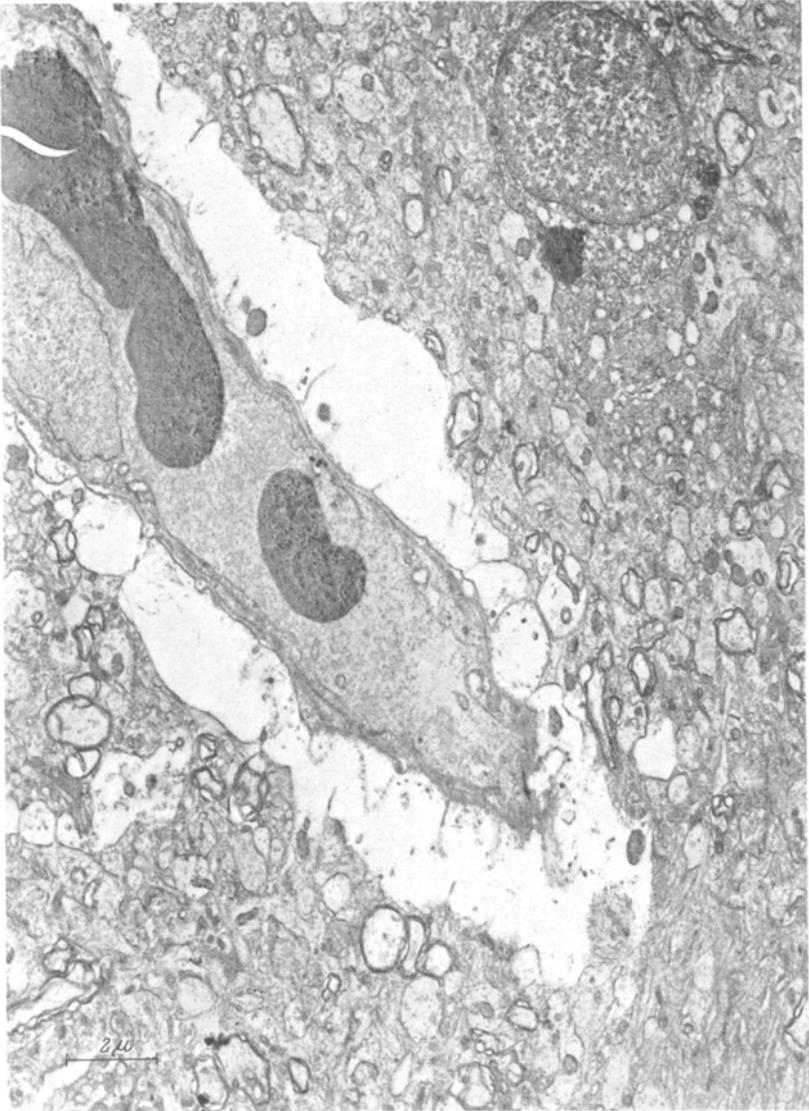


Abb. 7. *Capillare mit perivasculärem Ödem.* Vergr.: El. opt. 2500fach. Abb. 7500fach, Arch.-Nr. 1200/63.

In mehreren Fällen konnten wir Veränderungen an der Hirnrinde mit denen an der darunterliegenden Marksubstanz vergleichen. Dabei zeigte es sich, daß letztere locker geblieben war, also keinen Harnstoffeffekt aufwies.

In 2 Fällen dieser Gruppe war weder makroskopisch während der Operation noch elektronenmikroskopisch eine Harnstoffwirkung zu erkennen.

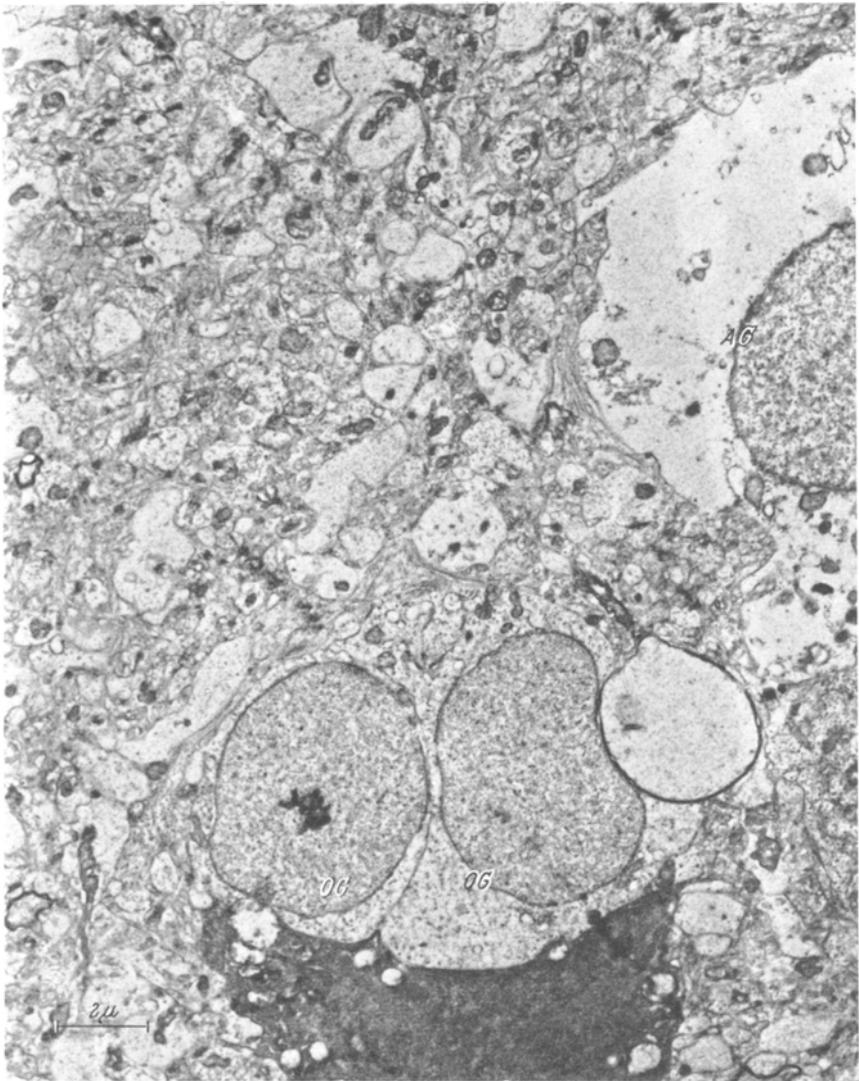


Abb. 8. Großhirnrinde eines Patienten mit Hirntumor, der ohne Harnstoff operiert wurde. Das sehr lockere Neuropil unterscheidet sich deutlich von dem in Abb. 4 gezeigten Bild. Im unteren Bildteil zwei helle Oligodendrogliazellen, rechts oben eine Astrogliazelle. OG Oligodendrogliazelle. AG Astrogliazelle. Vergr.: El. opt. 2500fach. Abb. 7500fach, Arch.-Nr. 985/63.

Man sieht hier ein sehr lockeres Neuropil mit hellen Oligodendrogliazellen und großen perivaskulären Exsudaten. Alle Schnitte dieses Materials sind eindeutig ödematös verändert. Außerdem sind in einem Fall fast alle Gefäße durch gequollene Erythrocyten verstopft. Die Bedeutung dieses Be-

fundes ist uns unbekannt. Allerdings ist zu bemerken, daß es postoperativ bei diesem Patienten zu ausgedehnten Thrombosierungen an den unteren Gliedmaßen kam.

In der 3. Gruppe haben wir 2 Patienten mit Hirntumoren zusammengefaßt, die ohne Harnstoff operiert wurden. In beiden Fällen fand sich eine sehr lockere graue Substanz (Abb. 8), daneben in einem Fall auch dichte Bezirke. Die Oligodendroglia ist hell, ebenso wie die Astroglia, deren Fortsätze deutlich gequollen und teilweise zerrissen sind. Dadurch bedingt ist es zu großen perivaskulären Exsudaten gekommen.

Die 4. Gruppe besteht aus 2 Fällen von anscheinend normaler Hirnrinde ohne Harnstoff. Man erkennt hier eine lockere normale graue Substanz ohne wesentliche pathologische Veränderungen.

Besprechung

Wie unsere Untersuchungen zeigen, betreffen die Veränderungen an der Hirnrinde unter Harnstoff vorwiegend die Oligodendroglia, die gegenüber der Norm deutlich dichter geworden ist, während die Astrocyten ihr helles Cytoplasma und ihre hellen, d. h. flüssigkeitsgefüllten Fortsätze behalten haben. Diese Beobachtung stimmt mit den Ansichten von *De Robertis* und Mitarbeitern² sowie *Iehii* und *Tani*⁷ überein, daß der Stoff- und Flüssigkeitsaustausch zwischen den Gefäßen und den Nervenzellen über die Glia, vor allem die Astroglia, abläuft. Dabei üben die Astrocyten anscheinend bei der durch den Harnstoff bedingten Schrumpfung die Funktion eines Flüssigkeitsreservoirs aus.

Die marginale Glia war unter der Harnstoffeinwirkung ebenfalls deutlich geschrumpft.

Eine weitere Harnstoffwirkung ist darin zu sehen, daß bei den Patienten mit cerebralen Gliomen unter Harnstoff nur vereinzelte kleine perivaskuläre Exsudate vorhanden waren, während bei der Gruppe mit Gliomen ohne Harnstoff sich große perivaskuläre Exsudate nachweisen ließen. Diese entstehen unserer Ansicht nach dadurch, daß Astrocytenfortsätze bei starker Quellung rupturieren, wodurch Flüssigkeit frei wird.

Die fehlenden Veränderungen an der weißen Substanz sind wahrscheinlich auf die Gefäß- und Glia-Armut des Marks zurückzuführen. Wir nehmen deshalb an, daß sich die Harnstoffwirkung vorwiegend an der grauen Substanz abspielt, und daß hierfür in erster Linie das osmotische Gefälle zwischen Gefäßen und grauer Substanz eine Rolle spielt.

Die Mitteilung von *Schoolar* und Mitarbeitern¹⁵, daß radioaktiver Harnstoff vorwiegend in der grauen Substanz angereichert wird, und daß auf Grund der Harnstoffarmut der weißen Substanz bzw. des osmotischen Druckgefälles zwischen dieser und der grauen Substanz die Dehydrierung vor allem die weiße Substanz betreffen müsse, steht in scheinbarem Gegensatz zu unseren Befunden. Dabei erscheint uns allerdings die Deutung, die diese Autoren ihren Befunden geben, aus folgenden Gründen nicht zwingend: Bei der von den Autoren angewandten Technik ist die Frage, ob der Harnstoff in der grauen Substanz intra- oder extravasal liegt, gar nicht zu entscheiden. Wahrscheinlich handelt es sich nämlich bei ihren Befunden um

intravasal gelegenen Harnstoff und es erscheint uns fraglich, ob Harnstoff überhaupt aus den Gefäßen in das Hirngewebe austritt. Außerdem läßt sich die Harnstoffarmut der weißen Substanz zwanglos mit deren Gefäßarmut erklären. Weitere Untersuchungen zu diesem Fragenkomplex sind zur Zeit in unserer Klinik im Gange.

Zusammenfassung

Phasenkontrast- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Gewebeproben von 18 Patienten über die morphologischen Veränderungen des menschlichen Gehirns nach intravenöser Harnstoffgabe.

Im Phasenkontrastmikroskop erscheint die Hirnrinde nach Harnstoff deutlich kompakter als normalerweise. Dies beruht, wie die elektronenmikroskopischen Befunde zeigen, auf einer Entquellung von Gliazellen und ihren Fortsätzen, wobei vorwiegend die Oligodendroglia betroffen ist. Die Oligodendrogliazellen sind unter Harnstoff dichter und kleiner, während die Astroglia unverändert erscheint. Die marginale Glia war unter Harnstoff ebenfalls deutlich geschrumpft.

Bei Patienten mit Großhirngliomen fanden sich in der Hirnrinde große perivaskuläre Räume, wahrscheinlich bedingt durch Ruptur gequollener Astrocytenfortsätze (Hirnödem). Nach Harnstoff waren derartige perivaskuläre Exsudate wesentlich seltener und geringer.

Sichere Veränderungen an der weißen Substanz waren nicht festzustellen. Dies ist wahrscheinlich auf die Gefäß- und Gliaarmut des Marks zurückzuführen.

Summary

The authors describe a phasecontrast- and electron-microscope investigation of the morphological changes in human brains after intravenous urea based on needle biopsy in 18 patients.

In phase contrast microscopy it appears that the cortex after urea becomes definitely more compact than normal. This is due, as the electron microscope shows, to an outflow from the glial cells and their processes with the oligodendroglia being predominantly affected. The oligodendroglia are denser and smaller after urea, whilst the astrocytes seem unchanged. The marginal glia are also definitely shrunken following urea.

In patients with cerebral hemisphere gliomas one finds large perivascular spaces in the cortex, apparently caused by the rupture of swollen astrocytic processes (brain oedema). After urea such perivascular exudates are significantly less common and smaller.

Definite changes in the white matter are not encountered. This is apparently the consequence of the paucity of vessels and of glial cells in this region.

Résumé

Description des recherches, par la microscopie en contraste de phase et la microscopie électronique sur des modifications morphologiques du cerveau humain après injection intraveineuse d'urée, basées sur la biopsie de 18 malades.

Au microscope en contraste de phase, il apparaît que le cortex, après injection d'urée, devient nettement plus compact. Ceci est dû, comme le montre la microscopie électronique, à une déshydratation des cellules gliales et de leurs prolonge-

ments, l'oligodendrogliose étant particulièrement affectée. Les cellules oligodendrogiales sont plus denses et plus petites après urée, tandis que les astrocytes ne paraissent pas modifiés. La glie marginale est aussi nettement diminuée de volume après urée.

Chez les malades ayant des gliomes hémisphériques on trouve de grands espaces périvasculaires dans le cortex, apparemment dus à la rupture de prolongements astrocytaires gonflés par l'œdème cérébral. Après urée, de tels exsudats sont, fait significatif, moins nombreux et plus petits.

On ne note pas de modifications nettes de la substance blanche, conséquence apparente de sa pauvreté en vaisseaux et en cellules gliales.

RIASSUNTO

Vengono descritte le alterazioni morfologiche e del tessuto cerebrale umano in 18 pazienti dopo somministrazione endovenosa di urea osservate con il microscopio a contrasto di fase e con il microscopio elettronico.

Al microscopio a contrasto di fase la corteccia cerebrale dopo urea appare più compatta che di norma. Questo dipende, come è mostrato dai preparati al microscopio elettronico da una proliferazione delle cellule gliali e dai loro prolungamenti ai quali sono frammisti molte cellule oligodendrogliali.

Le cellule oligodendrogliali sono più dense e più piccole dopo urea, mentre l'astroglia appare immutata. La glia marginale appare invece chiaramente raggrinzita.

In pazienti portatori di gliomi cerebrali si trovano nella corteccia cerebrale grosse lacune perivascolari, verosimilmente originate dalla rottura di prolungamenti astrocitari rigonfiati (edema cerebrale). Dopo urea gli esudati perivascolari sono chiaramente più rari e di minor importanza.

Nella sostanza bianca non è stata trovata alcuna alterazione sicura. Questo è verosimilmente dovuto alla povertà di vasi e di glia.

RESUMEN

Descripción de las investigaciones con el microscopio de fase y la microscopía electrónica sobre las modificaciones morfológicas del cerebro humano después de la inyección intravenosa de urea, basadas sobre la biopsia de 18 enfermos.

Al microscopio en contraste de fase se encuentra que el cortex después de la inyección de urea se vuelve netamente más compacto. Esto es debido, como lo demuestra el microscopio electrónico, a una deshidratación de células gliales y de sus prolongaciones, la oligodendrogliose se encontraba particularmente afectada. Las células oligodendrogiales son más densas y más pequeñas después de la urea, mientras que los astrocitos no parecían modificarse. La glia marginal está también netamente disminuida de volumen después de la urea.

En los enfermos con gliomas hemisféricos se encuentran grandes espacios perivasculares en el cortex, debidos aparentemente a la ruptura de prolongaciones astrocitarias hinchadas por el edema cerebral. Después de la urea es un hecho significativo que tales exudados son menos numerosos y más pequeños.

No se anotaron modificaciones netas en la sustancia blanca, consecuencia aparente de su pobreza en vasos y en células gliales.

LITERATUR

1. Clark, K., Lowering of intracranial pressure with urea. Arch. Neurol. Psychiatr., Chicago, 6 (1962), 414—418. — 2. De Robertis, E. D. P., H. M. Gerschenfeld und F. Wald, Some aspects of glial function as revealed by electron micro-

scopy. IV. Internationaler Kongreß für Elektronenmikroskopie. Band II, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1960. — 3. *Fremont-Smith, F.*, und *H. S. Forbes*, Intraocular and intracranial pressure. An experimental study. Arch. Neurol. Psychiatr., Chicago, 18 (1927), 550—564. — 4. *Giboe, D.*, *M. Javid* und *P. Frechette*, The fate and distribution of hypertonic urea solutions: a preliminary report. Surg. Digest., Chicago, 11 (1960), 390—391. — 5. *Gött, U.*, *W. Grote* und *R. Willenweber*, Erfahrungen mit Harnstoff als hirndrucksenkender Substanz in der Neurochirurgie. Arch. klin. Chir., Berlin, 299 (1961), 413—422. — 6. *Hertel, E.*, Experimentelle Untersuchungen über die Abhängigkeit des Augen-druckes von der Blutbeschaffenheit. Graefe's Arch. Ophth. 88 (1914), 197—229. — 7. *Iehü, S.*, und *E. Tani*, Electron microscopic study of the blood-brain-barrier in brain swelling. Acta neuropath. 1 (1962), 474—488. — 8. *Javid, M.*, Urea — new use of an old agent. Surg. Clin. N. America 38 (1958), 907—928. — 9. *Javid, M.*, Urea in intracranial surgery. J. Neurosurg., Springfield, 18 (1961), 51—57. — 10. *Javid, M.*, und *J. Anderson*, The effect of urea on cerebrospinal fluid pressure in monkeys before and after bilateral nephrectomy. .. Laborat. Clin. Med., S. Louis, 53 (1959), 484—489. — 11. *Javid, M.*, und *P. Settlage*, Effect of urea on cerebrospinal fluid pressure in human subjects. J. Amer. Med. Ass. 160 (1956), 943—949. — 12. *Langfitt, Th. W.*, Possible mechanisms of action of hypertonic urea in reducing intracranial pressure. Neurology 11 (1961), 196—209. — 13. *Luse, S. A.*, Histochemical implications of electron microscopy of the central nervous system. Symposium on the histochemistry of the nervous system. New York, April, 1960. J. Histochem. Cytochem. 8 (1960), 398—411. — 14. *Luse, S. A.*, und *B. Harris*, Brain ultrastructure in hydration and dehydration. Amer. Med. Ass. Arch. Neurol. Psychiatr. 4 (1961), 139—152. — 15. *Schoolar, J. C.*, *Ch. F. Barlow* und *L. J. Roth*, The penetration of carbon-14 urea into cerebrospinal fluid and various areas of the cat brain. J. Neuropath., Baltimore, 19 (1960), 216—227. — 16. *Stubbs, J.*, und *J. Pennybacker*, Reduction of intracranial pressure with hypertonic urea. Lancet 1 (1960), 1094—1097.