

Aus dem Veterinär-Anatomischen Institut
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Lichtmikroskopische, elektronenmikroskopische
und histochemische Untersuchungen am Ependym
des III. Ventrikels von Rind, Schaf und Ziege**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

FRITZ-RÜDIGER MERL

Gießen 1973

VVB LAUFERSWEILER VERLAG

ISBN 3-89687-638-4

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2003

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2003

© 2003 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Wettenberg
Printed in Germany

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE
www.vvb-ips.de

Aus dem Veterinär-Anatomischen Institut
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. H. Goller

**Lichtmikroskopische, elektronenmikroskopische
und histochemische Untersuchungen am Ependym
des III. Ventrikels von Rind, Schaf und Ziege**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
FRITZ-RÜDIGER MERL
Tierarzt aus Oberaudorf

Gießen 1973

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: **Prof. Dr. E. Weiß**

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Goller
2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Rufeger

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juni 1973

Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgesellschaft

Meinen Eltern

	Seite
I. Einleitung	1
II. Material und Methoden	3
a) Histologische Methoden	3
b) Histochemische Methoden	4
1. Nachweis von Kohlenhydraten	4
2. Nachweis von Lipiden	4
c) Enzym-zytochemische Methoden	4
1. Alkalische Phosphatase	4
2. Saure Phosphatase	5
3. Adenosintriphosphatase (ATPase)	6
4. Unspezifische Esterasen	7
5. Monoaminoxidase	8
6. Cytochromoxidase	9
7. Succinat-Dehydrogenase	9
III. Ergebnisse	10
a) Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungsbefunde	10
1. Kubische Ependymzellen	10
2. Ependymzellen mit langen, peripher gerichteten Fortsätzen (Tanyzyten)	16
3. Endothelähnliche Ependymzellen	23
b) Histochemische Untersuchungsbefunde	27
1. Kohlenhydrate	27
2. Lipide	27
c) Enzym-zytochemische Untersuchungsbefunde	28
1. Alkalische Phosphatase	28
2. Saure Phosphatase	29
3. Adenosintriphosphatase (ATPase)	31
4. Unspezifische Esterasen	34
5. Oxydoreduktasen	37

	Seite
IV. Diskussion	39
V. Zusammenfassung	47
VI. Literaturverzeichnis	49

I. Einleitung

Histologische Untersuchungen über den Bau des Ependyms im III. Ventrikel unserer Haustiere sind in der Literatur nur vereinzelt beschrieben. Systematische Untersuchungen über die Feinstruktur der verschiedenen Ependymzellformen, insbesondere bei den Hauswiederkäuern, fehlen vollkommen. Außerdem war nach umfangreichem Literaturstudium festzustellen, dass bisher noch keine elektronenmikroskopischen Untersuchungen zur Feststellung der Enzymlokalisierung innerhalb der Ependymzellen durchgeführt wurden.

Umfangreiche histologische Untersuchungen am Ependym des III. Ventrikels wurden bisher bei Selachiern (HORSTMANN, 1954), bei der Landschildkröte und der Katze (FLEISCHHAUER, 1957 und 1960), beim Menschen (SCHIMRIGK, 1966), beim Frosch (PAUL, 1967), bei der Ratte (COLMANT, 1967 und SCHACHENMAYR, 1967) und beim Meerschweinchen (WENZEL et al., 1970) beschrieben. Insbesondere von SCHACHENMAYR (1967) wurde das Ependym des III. Ventrikels der Ratte in drei Regionen nach lichtmikroskopischen Kriterien eingeteilt. Er unterscheidet dabei eine dorso-rostrale, eine mittlere und eine ventrale Region. In der dorso-rostralen Region fand er vorwiegend ein Wimpernependym, in der mittleren Region ein zweischichtiges Ependym mit einer oberflächlichen Schicht von Wimpernependym und einer darunter gelegenen Zellschicht mit langen Fortsätzen, die ins angrenzende Neuropil ziehen. In der ventralen Region sind vornehmlich Zellen mit peripher gerichteten Fortsätzen anzutreffen. Sie wurden erstmals von HORSTMANN (1954) als Tanyzyten bezeichnet.

Neben dieser regionalen Einteilung nach Form und Anordnung der Ependymzellen wurde von SCHACHENMAYR (1967) auch ein unterschiedliches enzym-zytochemisches Verhalten der einzelnen

Ependymzellformen festgestellt. Er beschreibt im Wimpernependym vornehmlich Enzyme des oxydativen Stoffwechsels für mechanische Aufgaben des Ependyms. In dem Tanyzytenependym dagegen fand er überwiegend Enzyme für glykolytische Stoffumsätze als Ausdruck für Syntheseleistungen. Aus der starken ATPase-Aktivität in der mittleren Region wurde auf Transportvorgänge geschlossen.

Neben dieser umfassenden Arbeit von SCHACHENMAYR (1967) über die morphologische und enzym-zytochemische Differenzierung im Ependym des III. Ventrikels der Ratte liegen auch enzym-zytochemische Untersuchungen am Ependym der Landschildkröte und der Katze (FLEISCHHAUER, 1957 und 1960), der Ratte, der Maus, des Meerschweinchens und des Kaninchens (BARTONICEK und LOJIDA, 1964, COLMANT, 1967, WENZEL et al., 1970, LUPPA und FEUSTEL, 1970 a) und des Frosches (PAUL, 1960) vor. Vergleichbare Untersuchungen bei unseren Haustieren fehlen bisher.

In der vorliegenden Arbeit soll deswegen auf folgende Fragen eingegangen werden:

1. Sind im III. Ventrikel der Hauswiederkäuer gleichfalls durch licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen verschiedene Typen von Ependymzellen zu unterscheiden?
2. Kommen Lipide und Glykogen im Ependym vor?
3. Welche Enzyme lassen sich zytochemisch nachweisen und welche feinstrukturelle Lokalisation zeigen die elektronenmikroskopisch darstellbare Enzyme?

II. MATERIAL UND METHODEN

Insgesamt standen 23 Tiere, davon 8 Schafe, 8 Ziegen und 7 Rinder beiderlei Geschlechts für die Untersuchungen zur Verfügung. Nach dem Entbluten der Tiere in Chloralhydrat-Narkose wurden die Gehirne entweder sofort entnommen und in 5 %-igem Glutaraldehyd fixiert oder erst nach vorheriger Perfusionsfixierung teils mit Formalin, teils mit 2,5 %-iger Glutaraldehydlösung behandelt. Von den in der Medianen getrennten Gehirnhälften wurden Ependymbezirke im III. Ventrikel dorsal, ventral, kranial und kaudal der *Massa intermedia* und zusätzlich im Bereich des *Recessus infundibuli* entnommen.

a) Histologische Methoden

Nach der über die *Arteria carotis communis* erfolgten Perfusionsfixierung mit 8 %-igem Formalin und nach der Entnahme der Proben wurden 10 µm dicke Paraffinschnitte teils in transversaler, teils in horizontaler Schnittrichtung angefertigt. An Färbungen wurden verwandt:

1. Markscheidenfärbung mit Luxol-Fast-Blue nach KLÜVER und BARRERA (1953),
2. Silberimprägnierung nach der Methode von BODIAN (1937),
3. Gliafaserfärbung nach HOLZER (1921) und
4. H. E.-Färbung.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden die von frisch entnommenen und in der Medianen getrennten Gehirnhälften stammenden Proben aus dem III. Ventrikel in 5 %-igem Glutaraldehyd, gepuffert in 0,1 mol Na-Cacodylatpuffer pH 7,2 (SABATINI, BENSCH und BARNETT, 1963), fixiert,

mit 1 %-iger Osmiumlösung in Phosphatpuffer pH 7,2 nachfixiert und teils in Vestopal, teils in Epon eingebettet. Die Dünnschnitte (LKB Ultratome und Ultramikrotom OMU 2, Reichert) wurden im Elektronenmikroskop (EM) 9 2 S Zeiss untersucht.

b) Histochemische Methoden

1. Nachweis von Kohlenhydraten

Die Proben für den Glykogennachweis wurden mit Pikrinsäuregemisch nach Gendre fixiert. An den Paraffinschnitten wurden die Karminfärbung nach Best, die PAS-Reaktion nach Pearse, die Glykogenreaktion nach Bauer, zur Kontrolle die Alcianblaufärbung mit anschließender PAS-Reaktion, die Acetylierung und Entacetylierung sowie der Diastase-Test durchgeführt.

2. Nachweis von Lipiden

An 15 µm dicken Gefrierschnitten, die mit Formol-Kalzium nach Baker fixiert waren, wurden folgende Färbungen vorgenommen: Oil-Red-O nach Lillie, Sudanschwarz B nach Lison und Nilblau nach Cain. Die Kontrollschnitte wurden vor den einzelnen Reaktionen mit Pyridin extrahiert.

c) Enzym-zytochemische Methoden

1. Alkalische Phosphatase

Nach der Tötung und Entblutung der Tiere wurde über die *A. carotis communis* mit Ringerlösung gespült und anschließend 2,5 %-iges Glutaraldehyd,

gepuffert mit 0,2 mol Natriumphosphatpuffer pH 7,3, perfundiert. Die in der Medianen getrennten Gehirnhälften verblieben darauf 6 Stunden in frischer gepufferter Glutaraldehydlösung und danach in 0,1 mol Cacodylatpuffer pH 7,2. Nach der Entnahme der Proben wurde der Nachweis nach HUGON und BORGERS (1966 a) geführt:

Inkubationsmedium: 2,0 ml Tris-Maleat-Puffer 0,2 mol, pH 9,0

2,0 ml Na- β -Glycerophosphatlösung 1,25 %

1,3 ml Pb (NO₃)₂ 1 %

End-pH 9,0

Die Kontrollschnitte wurden mit substratfreiem Medium behandelt. Die Inkubationszeit betrug für die elektronenmikroskopische Untersuchung 5 Minuten bei 4 °C, für die lichtmikroskopische Darstellung (15 μ m Gefrierschnitte) 10 Minuten bei Zimmertemperatur. Die Weiterbehandlung vor dem Einschluss in Gelatine erfolgte wie beim Nachweis der sauren Phosphatase. Für die Elektronenmikroskopie wurden die Schnitte 1 Stunde in 1 %-igem Osmium nachfixiert und mit 5 %-igem Uranylacetat nachkontrastiert.

2. Saure Phosphatase

Die Proben für den Nachweis der sauren Phosphatase wurden unmittelbar nach der Tötung der Tiere 4 Stunden in cacodylatgepuffertem 5 %-igem Glutaraldehyd pH 7,2 fixiert; anschließend in 0,1 mol Na-Cacodylatpuffer pH 7,2 mit 7 % Sucrose mindestens 2 Stunden gespült und aufbewahrt. Der Nachweis erfolgte nach der Methode von MILLER und PALADE (1964).

Inkubationsmedium: 0,12 g Pb (NO₃)₂ in 100 ml 0,05 mol Na-Acetatpuffer,

pH 5,0 mit 7,5 % Sucrose (0,22 mol),

10 ml 3 %-ige Na- β -Glycerophosphatlösung

End-pH 5,0

Im Kontrollmedium war kein Glycerophosphat enthalten. Die Inkubationszeit betrug 30 Minuten bei Zimmertemperatur. Anschließend wurden die 15 µm dicken Gefrierschnitte in Na-Acetatpuffer (0,05 mol, pH 5,0) mit 7,5 % Sucrose und 4 % Formalin in 1 %-iger Essigsäure und zuletzt in vorhergehendem Acetatpuffer gespült. Vor dem Einschließen in Glyceringelatine wurden die Schnitte mit Ammoniumsulfidlösung behandelt.

Der elektronenmikroskopische Nachweis wurde an 50 µm dicken Schnitten nach einer zehnminütigen Inkubation bei Zimmertemperatur vorgenommen. Die Spülung erfolgte nach vorangegangenem Schema unter Austausch der 1 %-igen gegen eine 2 %-ige Essigsäure. Zur Nachfixierung wurden die Schnitte 2 Stunden bei 4 °C in 1 %-ige Osmiumsäure gegeben. Die Nachkontrastierung erfolgte teilweise mit 5 %-igem Uranylacetat.

3. Adenosintriphosphatase (ATPase)

Nach vierstündiger Fixierung frisch entnommener Proben in 5 %-igem Glutaraldehyd mit 0,1 mol Cacodylatpuffer pH 7,2 erfolgte eine Spülung mit demselben Puffer, der 7 % Sucrose enthielt. Die Inkubationsdauer der Schnitte betrug sowohl für die lichtmikroskopische als auch für die elektronenmikroskopische Untersuchung 15 Minuten bei Zimmertemperatur. Die Mg^{++} -, Mg^{++} - Na^+ - K^+ - und Ca^{++} -aktivierbare ATPase wurde mit dem Wachstein Meisel Medium, modifiziert nach FARQUHAR und PALADE (1966), diagnostiziert:

- a: 0,83 mmol ATP; 10 mmol $MgSO_4$; 80 mmol Tris-Maleat-Puffer pH 7,2;
2,4 mmol $Pb(NO_3)_2$; End-pH 7,2.
- b: Medium (a) mit Zusatz von 0,1 mol NaCl und 20 mmol KCl.
- c: Medium (a), in welchem $MgSO_4$ durch 5 mmol $CaCl_2$ ersetzt wurde.

- d: Medium (a), bei dem ATP durch äquimolare Konzentration von Na- β -Glycerophosphat ausgetauscht wurde.
- e: Medium (a) ohne MgSO₄; damit wurde ein Ausschluß der durch Spontanhydrolyse entstandenen Reaktion bewirkt.
- f: Medium (a) ohne ATP.

Anschließend wurden die für die Lichtmikroskopie verwendeten Schnitte mit Aqua dest. gespült, mit Ammoniumsulfidlösung behandelt und in Glyceringelatine eingedeckt. Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden 50 μ m dicke Gefrierschnitte nach der Inkubation in Acetat-Veronal-Puffer pH 7,4 mit 7 % Sucrose gespült und mit 1 %-igem OsO₄ 45 Minuten nachfixiert. Teilweise wurden die Dünnschnitte vor der Untersuchung im Elektronenmikroskop in 5 %-iger wässriger Uranylacetatlösung nachkontrastiert.

4. Unspezifische Esterase

Die Proben wurden in 5 %-igem Glutaraldehyd fixiert und anschließend in 0,1 mol Cacodylatpuffer pH 7,2 mit 7,5 % Sucrose gegeben. Für die lichtmikroskopische Untersuchung wurden 15 μ m dicke Gefrierschnitte nach der Methode von NACHLAS und SELIGMAN (1949) 20 Minuten bei Zimmertemperatur in nachstehendem Medium inkubiert:

49 ml 0,1 mol Phosphatpuffer pH 6,5
1 ml 1 %-ige Lösung von α -Naphthylacetat in 50 % Aceton
50 mg Echtblausalz B
End-pH 6,5

Nach der Inkubation wurden die Schnitte mehrmals in Leitungswasser gespült und in Glyceringelatine eingedeckt. Für die elektronenmikroskopische Untersuchung

wurde die Methode von CREVIER und BELANGER, nach Angaben von HUGON und BORGERS (1967), angewandt.

Medium: 23 ml Cacodylatpuffer 0,05 mol pH 5,2
0,5 ml MgCl₂ 1 mol
1 ml Thioessigsäure 0,24 mol
0,2 ml Pb(NO₃)₂ 0,1 mol
End-pH 5,2

Dem Medium wurden 7,5 % Sucrose zugesetzt. Die Kontrolle erfolgte unter Austausch der Thioessigsäure mit Aqua dest. Die Inkubation der 50 µm dicken Gefrierschnitte dauerte 60 Minuten bei 4 °C. Nach dem Spülen in Aqua dest. und der einstündigen Nachfixierung in 1 %-igem Osmium wurden die Schnitte in Epon eingebettet.

5. Monoaminoxidase

Methode nach GLENNER, BURTNER und BROWN (1957):

Native Kryostatschnitte (20 µm) wurden 50 Minuten bei 37 °C in folgendem Medium inkubiert:

25 mg Tryptaminmonohydrochlorid
4 mg Natriumsulfat
5 mg p-Nitroblautetrazoliumchlorid (Nitro-BT)
5 ml 0,1 mol Phosphatpuffer pH 7,6
15 ml Aqua dest.

Das Kontrollmedium enthielt kein Tryptaminmonohydrochlorid. Nach der Spülung in Aqua dest. wurden die Schnitte in neutralem 10 %-igem Formalin 1 – 2 Stunden nachfixiert und in Glyceringelatine eingeschlossen.

6. Cytochromoxydase

Methode nach BURSTONE (1959):

Native Kryostatschnitte wurden 45 Minuten in nachstehendem Medium inkubiert:

- 1 ml Äthanol 96 %
- 20 mg α -Naphtholacetat
- 20 mg 4-Amino-diphenylamin
- 29 ml 0,2 mol Tris-HCl-Puffer pH 7,4
- 70 ml Aqua dest.

Die Kontrollschnitte wurden im gleichen Medium jedoch ohne 4-Amino-diphenylamin inkubiert. Nach sechzigminütiger Behandlung mit 10 %-igem Kobaltnitrat in 10 %-igem Formol und zweimaligem Wässern in fließendem Wasser wurden die Schnitte in Glyceringelatine eingedeckt.

7. Succinat-Dehydrogenase

Methode nach GOEBEL und PUCHTLER (1955):

Die Inkubationszeit der 20 μ m dicken nativen Kryostatschnitte betrug 20 Minuten bei 37 °C in folgendem Medium:

- 12,5 ml 0,2 mol Phosphatpuffer pH 7,6
- 12,5 ml 0,2 mol Bernsteinsäure (Dinatriumsuccinat)
- 12,5 ml Aqua dest.
- 12,5 ml Salzlösung: 34 ml Aqua dest., 1 ml 0,25 mol CaCl_2 ,
1 ml 0,05 mol MgSO_4 ,
10 ml 0,6 mol NaHCO_3 , 4 ml AlCl_3 .
- 50 mg p-Nitroblautetrazoliumchlorid (Nitro-BT).

Im Kontrollmedium fehlte das Substrat (Dinatriumsuccinat).

III. ERGEBNISSE

a) Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungsbefunde

Im Bereich des III. Ventrikels können bei Rind, Schaf und Ziege drei Formen von Ependymzellen unterschieden werden:

1. kubische Ependymzellen,
2. Ependymzellen mit langen peripher gerichteten Fortsätzen (Tanyzyten),
3. endothelähnliche Ependymzellen.

1. Kubische Ependymzellen

Lichtmikroskopisch (Abb. 1): Diese Zellform ist in der Wand des III. Ventrikels bei Rind, Schaf und Ziege am häufigsten zu beobachten. Es sind bei Rind, Schaf und Ziege 6,6 – 8,0 µm große, gleichförmige Zellen, die zu einem dicht geschlossenen Zellverband vereinigt den Liquorraum vom Nervengewebe abgrenzen. Ihr runder *Zellkern* (a) misst 4 µm und kann in einzelnen Zellen auch längs- (b) und querovale (c) Form annehmen. Er ist zur Zellbasis gelegen und hebt sich deutlich von dem hellen, feingranulierten Zytoplasma ab. Seine Chromatinsubstanz ist unregelmäßig auf die Kernperipherie und das Kerninnere verteilt. Gelegentlich ist ein exzentrisch gelegener Nucleolus (d) zu finden. Die Kerne erscheinen durch ihre Gleichförmigkeit und gleichmäßige Anordnung im Ependymzellverband perlschnurartig aufgereiht.

Die *Basis* dieser Ependymzellen ist zu dem darunterliegenden Nervengewebe geradlinig begrenzt. *Apikal* hebt sich etwa über ein Viertel der Zellhöhe ein mäßig angefärbter, heller Zytoplasmasaum (e) ab. Nur in diesem Bereich ist

lichtmikroskopisch eine Abgrenzung (f) zu den Nachbarzellen zu erkennen. Etwa 80 % der kubischen Ependymzellen, die den III. Ventrikel auskleiden, sind mit *Kinozilien* (g) ausgestattet. Sie bilden einen 4 µm breiten Flimmersaum. Ihre Kinetosomen sind direkt unter der Zelloberfläche als feinkörnige Linie (h) erkennbar. An der Oberfläche einer Ependymzelle können bis zu 15 Kinozilien vorhanden sein.

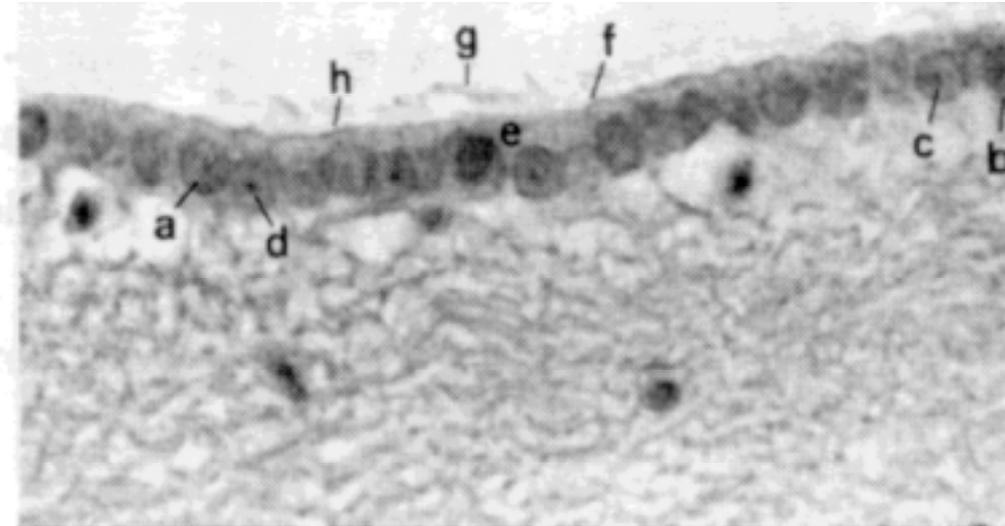


Abb. 1: Kubische Ependymzellen aus dem Thalamusbereich des III. Ventrikels vom Rind (Vergr. 896 x). Zellkerne mit runder (a), längs- (b) und querovaler (c) Form; Nucleolus (d); heller apikaler Zytoplasmasaum (e); Zellgrenzen (f); Kinozilien (g); Kinetosomensaum (h).

Elektronenmikroskopisch (Abb. 2 und 3): Elektronenoptisch heben sich an den kubischen Ependymzellen deutlich zwei verschiedene elektronendichte Zonen ab. Basal und lateral des Nucleus bis etwa zwei Drittel nach apikal reichend ist das Zytoplasma auffallend locker strukturiert und in der Übersicht nur mäßig osmiophil. In dem apikal anschließenden Abschnitt sowie in der supranukleären Zone ist das Zytoplasma wesentlich dichter und reicher an Zytoplasmastrukturen. Außerdem ist der Zytoplasmaraum zwischen Plasmalemm und Kernmembran in der apikalen Zone nahezu doppelt so breit wie in der basalen Zone.

Das *endoplasmatische Retikulum* (Abb. 2, a) ist vom granulären Typ und nur spärlich entfaltet. Es tritt in Form von einzelnen, diffus verteilt liegenden Lamellen in Erscheinung, die in der basalen Zone zisternenartig erweitert sind. Daneben sind zu Polysomen (a`) zusammengelagerte Ribosomen in der basalen und apikalen Zone diffus verteilt. Der *Golgi-Apparat* (Abb. 2, b) ist in der supranukleären Zone auffallend gut entwickelt und meist in mehrfachen Komplexen deutlich erkennbar. Die *Mitochondrien* (Abb. 2, c) sind vom Crista-Typ. In der basalen Zone sind sie nur vereinzelt und fast ausschließlich in Kernnähe zu finden. In der apikalen Zone dagegen sind sie sehr zahlreich zwischen der Zelloberfläche und dem Zellkern unregelmäßig verteilt anzutreffen.

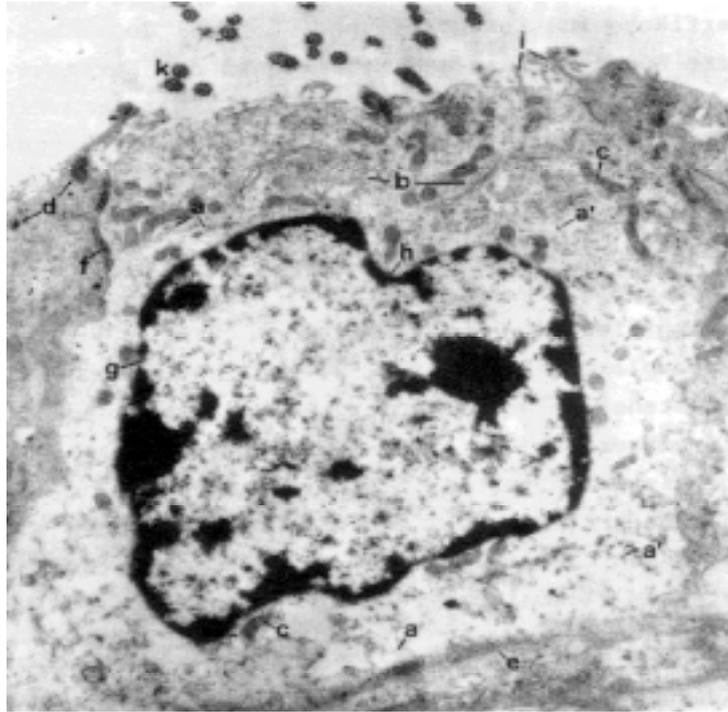


Abb. 2: Kubische Ependymzelle aus dem Thalamusbereich des III. Ventrikels vom Schaf (Vergr. 12500 x).
Endoplasmatisches Retikulum (a); freie Ribosomen (a`); Golgi-Apparat (b); Mitochondrien (c); Lysosomen (d); Plasmalemm (e); Haftkomplex (f); Kernplasma (g); apikale Kerneinbuchtung (h); Mikrovilli (i); Kinozilien (k).

Lysosomen (Abb. 2, d; Abb. 3, f; Abb. 14 und 15) können in allen untersuchten Präparaten nur supranukleär vereinzelt beobachtet werden. Sie können eine Größe von 0,2 – 0,4 μm erreichen und besitzen einen dichten oder hellen Innenraum. Das *Plasmalemm* (Abb. 2, e) grenzt die Ependymzelle an der Oberfläche zum Ventrikellumen, lateral gegen benachbarte Ependymzellen und basal gegen das Nervengewebe ab. Im basalen Bereich besitzt das Plasmalemm einen fast geradlinigen Verlauf und liegt dem Nervengewebe und den subependymalen Blutkapillaren direkt an. Eine Basalmembran fehlt als endependymale Unterlage. An den Seitenflächen der Ependymzellen zeigt das Plasmalemm einen unregelmäßig gewellten Verlauf. Nur in ihrem apikalen Bereich sind zu den Nachbarzellen gut ausgebildete *Haftkomplexe* (Abb. 2, f; Abb. 3, a – c) zu beobachten. Diese bestehen am weitesten apikal zunächst aus einer *Zonula adhaerens* (Abb. 3, a), darauf folgt nach basal ein meist erweiterter Interzellularspalt (Abb. 3, b) und danach eine *Zonula occludens* (Abb. 3, c). Eine *Macula adhaerens* fehlt. Diese Anteile des Haftkomplexes treten im Plasmalembereich der supranukleären Zone mehrfach auf.

An der Zelloberfläche befinden sich Mikrovilli und Kinozilien. Die *Mikrovilli* (Abb. 2, i; Abb. 3, d) sind unregelmäßig auf der Zelloberfläche verteilt und ragen als fingerförmige, bis zu 0,3 μm lange Ausstülpungen der Zellmembran in das Ventrikellumen vor, wobei deren freie Enden nach verschiedenen Richtungen zeigen. Die *Kinozilien* (Abb. 2, k; Abb. 3, e) lassen den charakteristischen Aufbau aus den neun randständigen Doppelfibrillen und einem zentralen liegenden Fibrillenpaar erkennen. Ihr Kinetosom (Abb. 3, e') erscheint als 0,4 – 0,6 μm großer, ringförmiger Körper direkt unter der Zelloberfläche.

Der *Zellkern* ist von einer deutlichen Doppelmembran (Abb. 2; Abb. 3 g) umgeben. An deren Innenblatt und unregelmäßig im Kerninneren liegt die stark osmiophile Chromatinsubstanz in feingranulärer Form. Der Nucleolus hebt sich

ebenfalls durch seine dunkle granuläre Struktur von dem restlichen hellen Karyoplasma ab. Apikal befindet sich fast immer eine tiefe Kerneinbuchtung (Abb. 2, h), die lateral nie, aber in einzelnen Fällen auch basal zu beobachten ist.

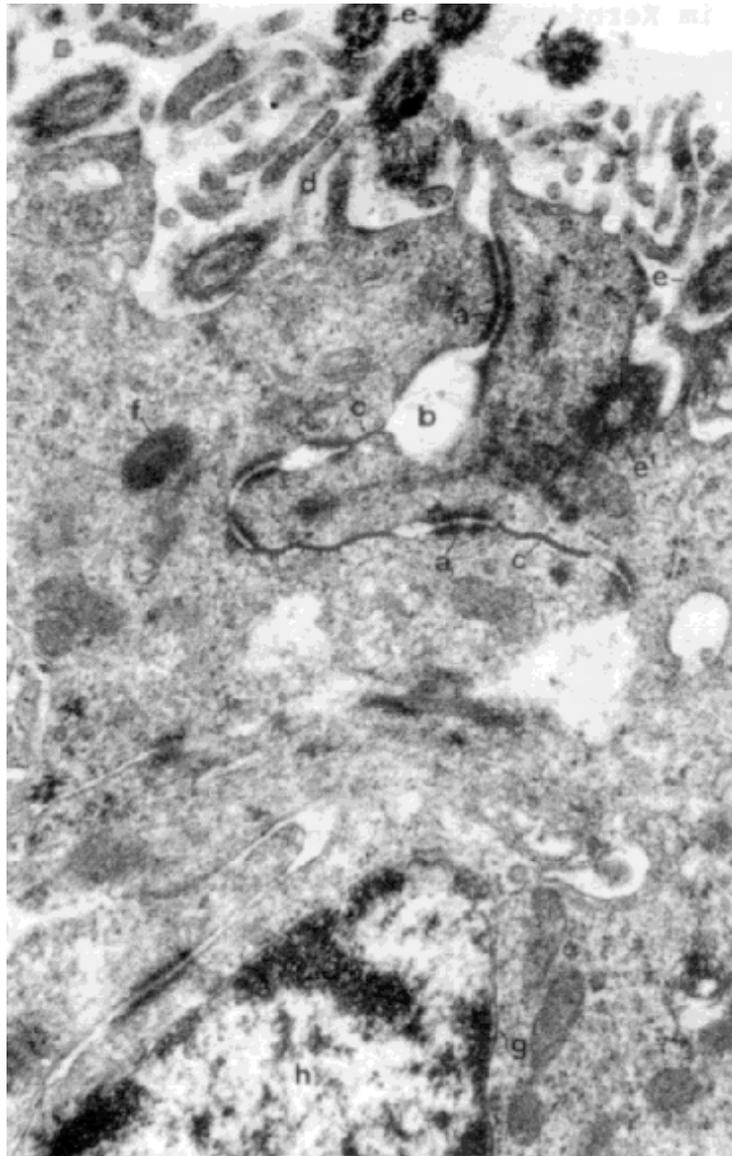


Abb. 3: Supranukleäre Zone mit Haftkomplex einer kubischen Ependymzelle aus der Seitenwand des III. Ventrikels vom Schaf (Vergr. 36000 x)
Zonula adherens (a); erweiterter Interzellularspalt (b); Zonula occludens (c); Mikrovilli (d); Kinozilie (e) mit Kinetosom (e`); Lysosom (f); Karyolemm (g); Zellkern (h).

2. Ependymzellen mit langen, peripher gerichteten Fortsätzen

Lichtmikroskopisch (Abb. 4 A, B, C): Diese Ependymzellart ist mit den von HORSTMANN (1954) als Tanyzyten bezeichneten Zellen identisch. Lichtmikroskopisch haben sich diese Zellen deutlich aus dem übrigen Ependymzellverband ab. Sie sind intensiver anfärbbar, besitzen einen längsovalen Zellkern und ragen an ihrer Basis mit einem langen, peripher gerichteten Fortsatz in das Nervengewebe vor. Sie sind nur im Hypothalamusbereich des III. Ventrikels anzutreffen. Sie erreichen bei Rinde, Schaf und Ziege eine Gesamtlänge von 60 µm. Der kernhaltige Anteil dieser Zelle hat dreieckige Form, misst zwischen 6,6 und 10,5 µm und liegt noch überwiegend innerhalb des Ependymzellverbandes. Der leicht gewellt verlaufende Fortsatz (b) erscheint zapfenförmig ausgezogen und besitzt eine schwach erkennbare Längsstreifung. Der chromatinreiche und intensiv anfärbbare Zellkern (c) hat meist eine längsovale Form und ist durchschnittlich 7,8 µm lang und 5 µm breit. Die Tanyzyten können einzeln oder als 2 bis 4 dicht zusammenliegende Zellen im Ependymzellverband auftreten.

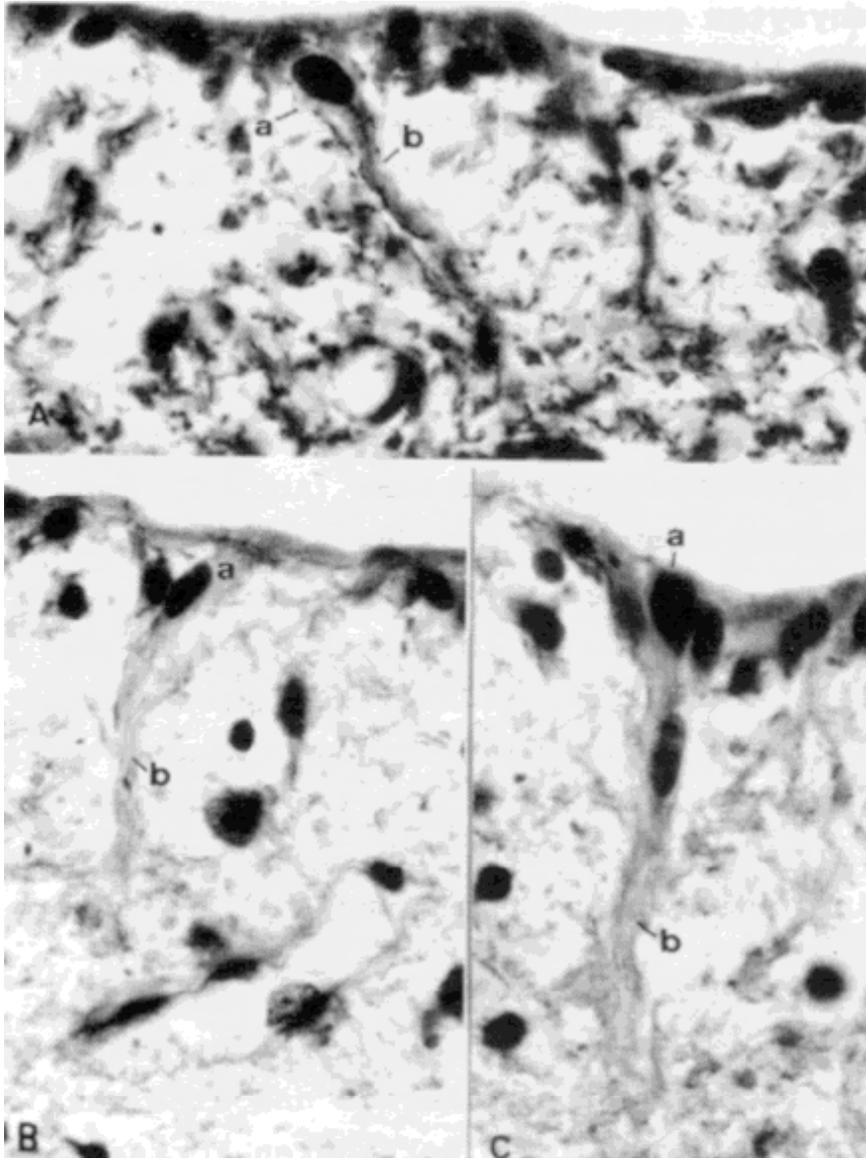


Abb. 4: Tanyzyten aus dem Hypothalamusbereich des III. Ventrikels vom Rind (Vergr. A 438 x; B 375 x; C 438 x)
Zelleib (a); peripherer Fortsatz (b).

Elektronenmikroskopisch (Abb. 5, 6 und 7): Nach den elektronenmikroskopischen Befunden zeigen sich an den Tanyzyten gegenüber den benachbarten kubischen Ependymzellen deutliche strukturelle Unterschiede. Die *Oberfläche* der Tanyzyten ist glatt und frei von Mikrovilli und Kinozilien (Abb. 5, a; Abb. 6, a), während diese an den angrenzenden kubischen Ependymzellen reichlich in Erscheinung treten (Abb. 5, b; Abb. 6, b). Die Tanyzyten sind lediglich an der Grenze zu den benachbarten Zellen mit bis zu 1,2 µm langen, zungenförmigen Zytoplasmaausstülpungen (Abb. 5, c; Abb. 6, c) ausgestattet. Die *Haftkomplexe* (Abb. 6, i; Abb. 7, b) zwischen den Tanyzyten und den benachbarten Zellen sind wie im apikalen Bereich der kubischen Ependymzellen ausgebildet. Es ist hier ebenfalls von apikal nach basal eine Zonula adhaerens, ein erweiterter Interzellularspalt und eine Zonula occludens erkennbar. Im übrigen Verlauf tritt das Plasmalemm als einheitlich feine Doppelmembran (Abb. 7, a) ohne weitere Hafteinrichtungen in Erscheinung.

Am Zytoplasma der Tanyzyten lassen sich wie an den kubischen Ependymzellen ebenfalls eine elektronendichtere Zone apikal des Zellkernes und eine basale weniger dichte Zone, die den peripheren Fortsatz mit einschließt, unterscheiden (Abb. 5; Abb. 6).

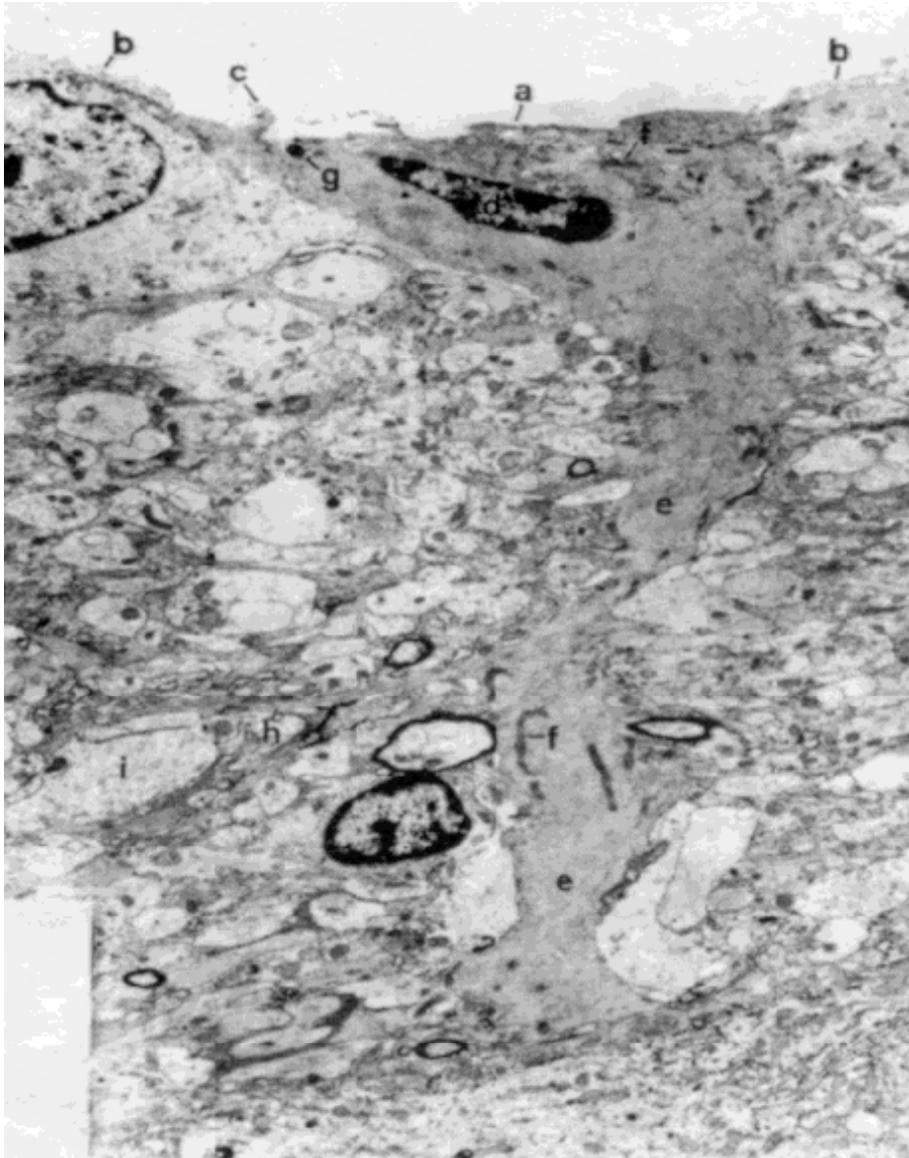


Abb. 5: Tanyzyten aus dem Hypothalamusbereich des III. Ventrikels vom Rind (Vergr. 1980 x)

Mikrovilli- und kinozilienfreie Zelloberfläche (a); angrenzende kubische Ependymzellen mit Mikrovilli- und Kinozilienbesatz (b); Zytoplasmaausstülpung des Tanyzyten an der Zellgrenze (c); Zellkern (d); peripherer Fortsatz (e); Mitochondrien (f); Lysosom (g); Ausläufer des Tanyzytenfortsatzes zu einer subependymalen Blutkapillare (h).

Das *endoplasmatische Retikulum* ist vom granulären und agranulären Typ. In der apikalen Zone ist es spärlich entfaltet und kommt nur in Form von einzelnen, diffus verteilt liegenden Lamellen (Abb. 7, c) vor. In der basalen Zone und insbesondere in dem peripheren Fortsatz tritt es umfangreicher und in Form eines lockeren, weitmaschigen Netzes mit zisternenartigen Erweiterungen auf (Abb. 7, d). Der *Golgi-Apparat* ist im supranukleären Bereich als umfangreicher und zum Teil erweiterter Lamellenkomplex erkennbar (Abb. 6, d).

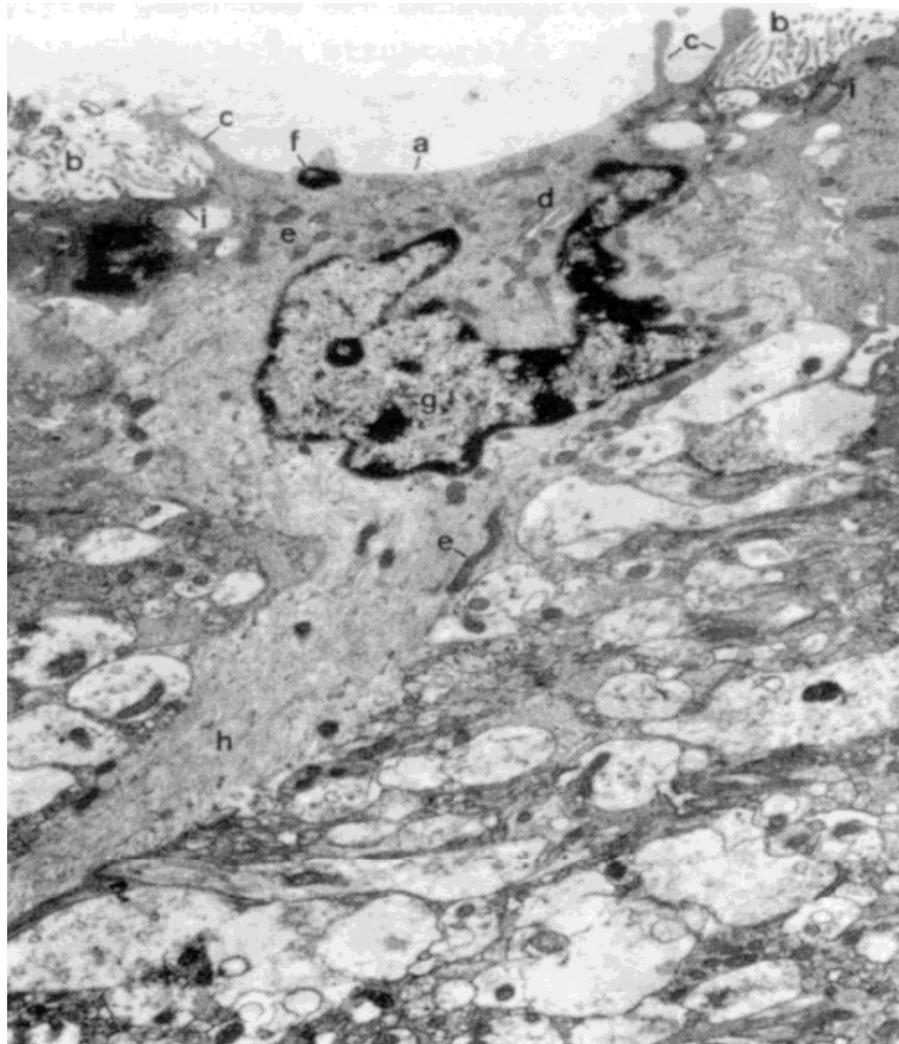


Abb. 6: Tanyzyt aus dem Hypothalamusbereich des III. Ventrikels vom Rind (Vergr. 9750 x)

Mikrovilli- und kinozilienfreie Zelloberfläche (a); angrenzende kubische Ependymzellen mit Mikrovilli- und Kinozilienbesatz (b); zungenförmige Zytoplasmaausstülpungen des Tanyzyten im Bereich der Zellgrenzen (c); Golgi-Apparat (d); Mitochondrien (e); Lysosomen (f); Zellkern (g); peripherer Fortsatz (h); Haftkomplex (i).

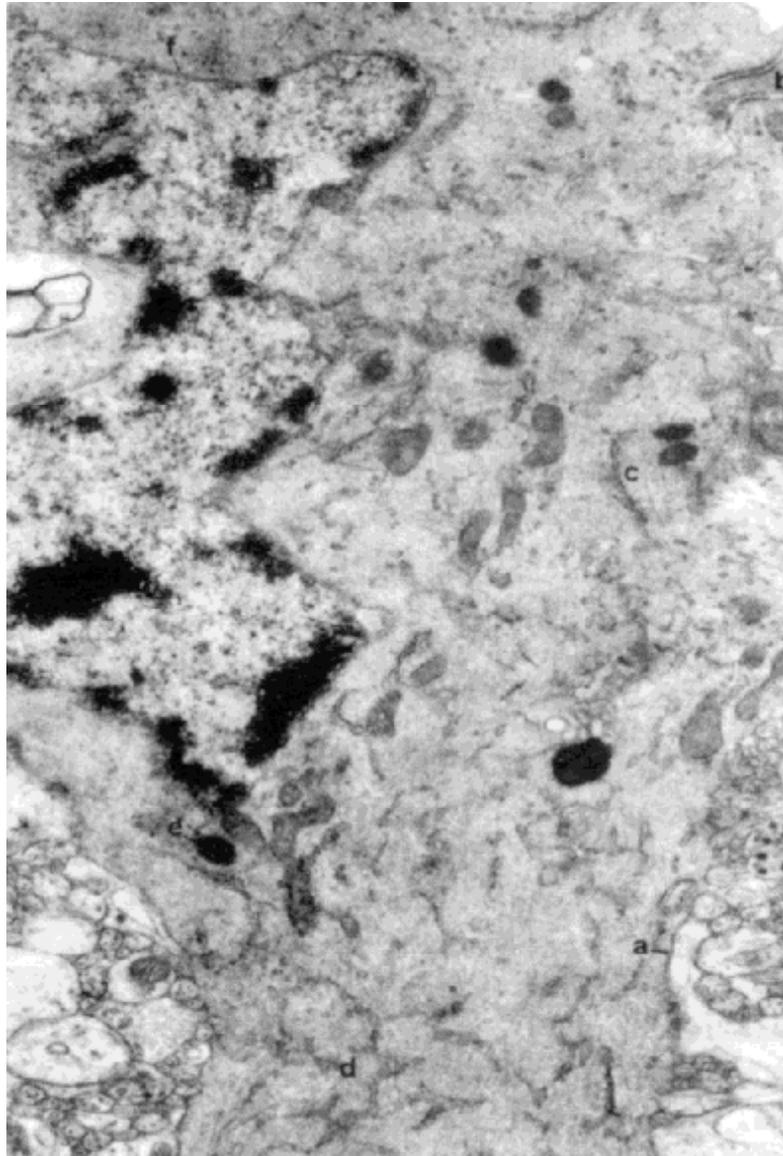


Abb. 7: Tanyzyt aus dem Hypothalamusbereich des III. Ventrikels vom Rind (Abschnitt aus dem perinukleären Bereich und dem peripheren Fortsatz; Vergr. 20000 x)
Plasmalemm (a); Haftkomplex (b); endoplasmatisches Retikulum in der apikalen Zone als einzelne Lamellen (c) und in der basalen Zone als lockeres weitmaschiges Netz (d); Lysosomen (e); Kernmembran (f).

Die *Mitochondrien* (Abb. 5, f; Abb. 6, e) treten vor allem in der apikalen Zone sehr zahlreich auf. In der basalen Zone sind sie vereinzelt in Kernnähe und entlang der Zellmembran zu sehen. In dem peripheren Fortsatz erscheinen sie in sehr langer, teils gewundener bandartiger Form. *Lysosomen* (Abb. 5, g; Abb. 6, f; Abb. 7, e) sind in den Tanyzyten sowohl in der apikalen als auch in der basalen Zone zu sehen. Sie besitzen eine unterschiedlich dichte Struktur und können bis zu 0,4 µm groß sein. Das Zytoplasma in den Tanyzytenfortsätzen besitzt durch sehr feine längsverlaufende Filamente eine zart gestreifte Grundstruktur. Ausläufer der Tanyzytenfortsätze legen sich zum Teil um die subependymal gelegenen Blutkapillaren (Abb. 5, h, i).

3. Endothelähnliche Ependymzellen

Lichtmikroskopisch (Abb. 8): Diese flache, langgestreckte Ependymzellform konnte bei Rind, Schaf und Ziege vornehmlich im Bereich des Recessus infundibuli beobachtet werden. Die einzelne Zelle besitzt ein weit ausgezogenes Zytoplasma und grenzt den Liquorraum endothelähnlich vom Nervengewebe ab. Diese Ependymzellen sind durchschnittlich 13 µm lang und enthalten meisten einen längsovalen, chromatinreichen Zellkern, der bis zu 6 µm lang und 3,3 µm breit ist. Im Bereich des Zellkernes erscheint der Zelleib lumenwärts vorgewölbt und ist bis zu 4 µm hoch. Neben dem Zellkern ist der Zytoplasmabereich jedoch nur durchschnittlich 2 µm hoch. Der Zellkern ist zum Teil exzentrisch gelegen, so dass im Zellverband der Abstand zwischen den Kernen benachbarter Zellen verschieden groß ist.

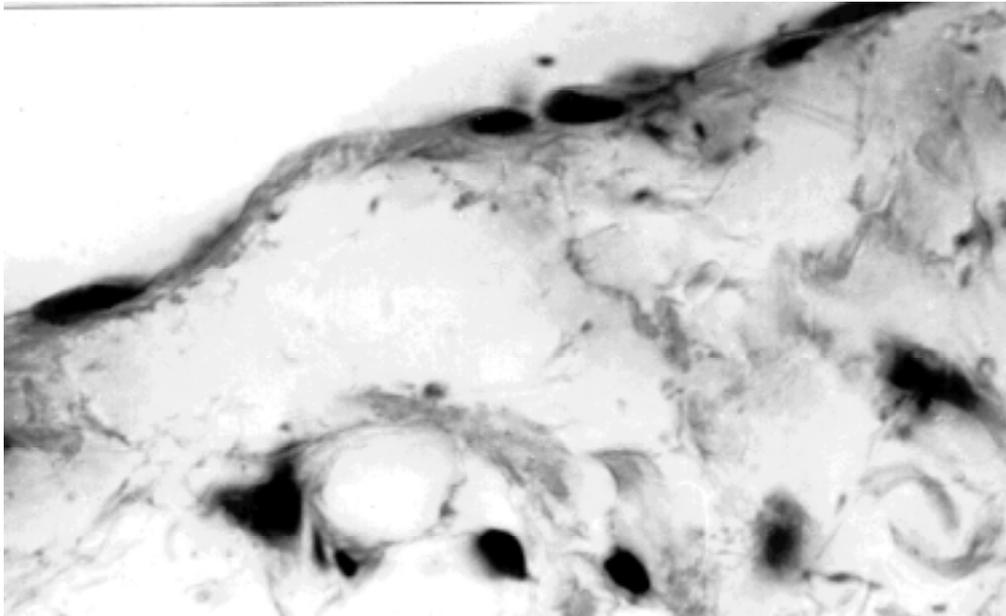


Abb. 8: Endothelähnliche Ependymzellen im Bereich des Recessus infundibuli vom Rind (Vergr. 600 x).

Elektronenmikroskopisch (Abb. 9): Nach elektronenmikroskopischen Befunden hebt sich an diesen endothelähnlichen Ependymzellen deutlich von den flach ausgezogenen peripheren Zytoplasmabezirken der ungefähr doppelt so breite kernhaltige Anteil ab. Der längsovale Zellkern (a) liegt dicht an der Zellbasis, uns zwischen Kernmembran und basalem Plasmalemm schiebt sich nur ein sehr schmaler Zytoplasmasaum. Zwischen Zelloberfläche und Kernmembran ist dagegen ein breiter und an Zellstrukturen reichhaltiger Zytoplasmasaum erkennbar. Es lassen sich somit auch an diesem Ependymzelltyp eine basale und apikale oder supranukleäre Zytoplasmazone unterscheiden.

Das *endoplasmatische Retikulum* (b) ist vom granulären Typ und tritt im gesamten Zytoplasmabereich nur in Form einzelner diffuser Lamellen in Erscheinung. Der *Golgi-Apparat* (c) hebt sich supranukleär nur undeutlich ab. Die *Mitochondrien* (d) besitzen überwiegend runde Form und sind in der supranukleären Zone und den seitliche schmalen Zytoplasmabezirken vereinzelt und diffus verteilt anzutreffen. In der basalen Zone fehlen sie fast völlig. Die *Lysosomen* (e) sind von unterschiedlich dichter Struktur und sind ebenfalls überwiegend auf die supranukleäre Zone und die seitlichen Zytoplasmabezirke verteilt. Das *Plasmalemm* (g) grenzt in unregelmäßig gewelltem Verlauf die Zelle gegen das Nervengewebe ab. Einzelne, teils lang ausgezogene Zytoplasmaausstülpungen (h) ragen in die subependymalen Spalträume. An der Zelloberfläche verläuft das Plasmalemm glatt und zeigt keine Ausstülpungen. Mikrovilli und Kinozilien fehlen dieser Ependymzellart. Zu den Nachbarzellen sind am Plasmalemm Haftkomplexe (f) erkennbar. Der Zellkern (a) ist von einer deutlichen Doppelmembran umgeben und besitzt unregelmäßig angeordnete Chromatinsubstanz in granulärer Form.

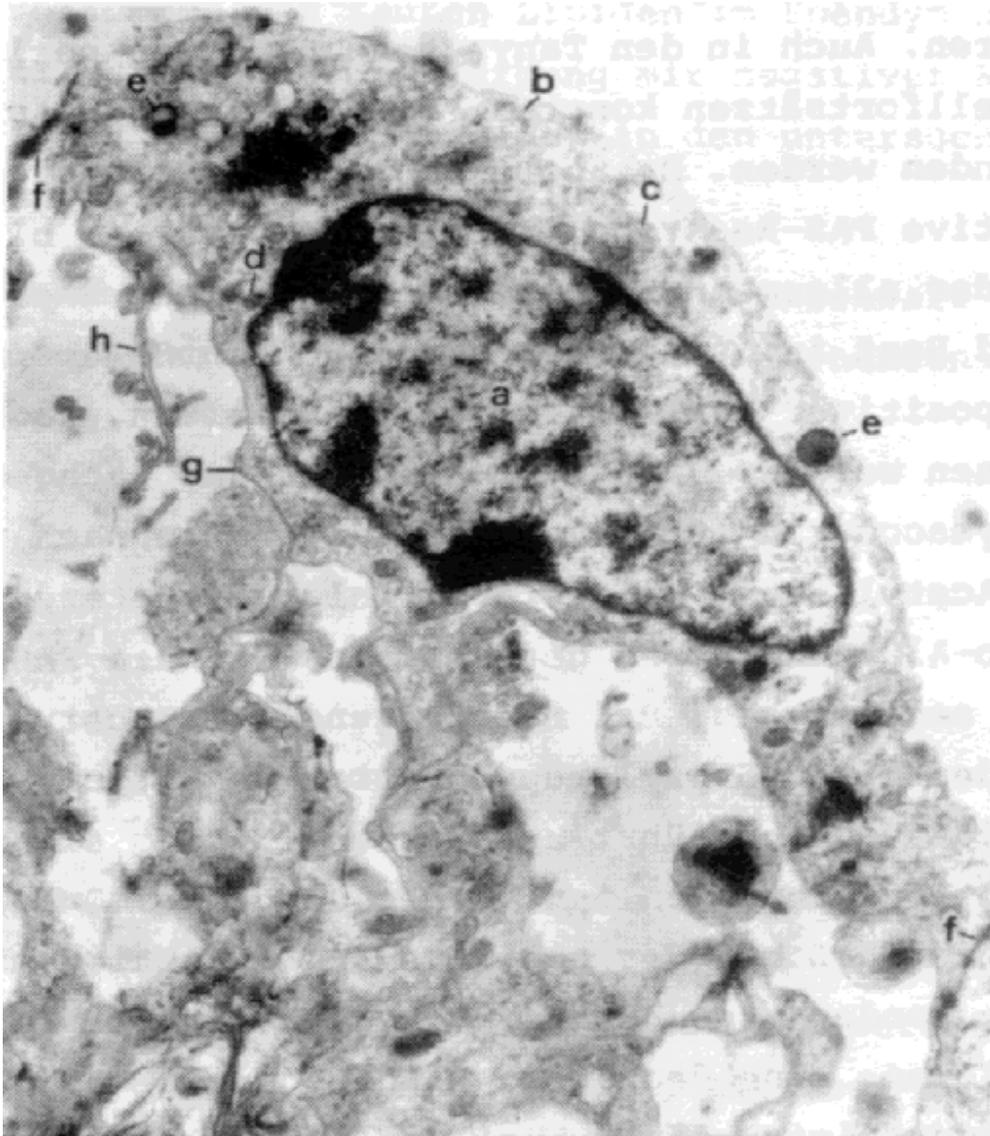


Abb. 9: Endothelähnliche Ependymzelle im Bereich des Recessus infundibuli vom Rind (Vergr. 12500 x)
Zellkern (a); endoplasmatisches Retikulum (b); Golgi-Apparat (c); Mitochondrien (d); Lysosomen (e); Haftkomplex (f); Plasmalemm (g); basale Zytoplasmaausstülpung (h).

b) Histochemische Untersuchungsbefunde**1. Kohlenhydrate (Glykogen)**

Die PAS-Reaktion nach Pearse fiel deutlich positiv aus in Form von roten granulären Reaktionsprodukten, die gleichmäßig im Zytoplasma der Ependymzellen verteilt waren. Auch in den Tanyzyten und deren peripheren Zellfortsätzen konnten PAS-positive Substanzen gefunden werden. Da aber nach dem Diastase-Test die positive PAS-Reaktion unverändert deutlich blieb und bei der allgemeinen Glykogen-Darstellung nach Bauer und Best in keiner der untersuchten Gewebeproben ein positiver Ausfall zu verzeichnen war, kann geschlossen werden, dass Glykogen nicht das nachgewiesene Polysaccharid ist. Wurden die Schnitte nach vorheriger Acetylierung und irreversibler Veresterung der Amino-Alkoholgruppen gefärbt, so fiel die PAS-Reaktion negativ aus. Bei nachfolgender Entacetylierung werden die Hydroxylgruppen durch Oxydation wieder in Aldehyde überführt und werden in Form einer schwachen Rotfärbung an den Proben sichtbar. Daraus ergibt sich, dass bei der positiven PAS-Reaktion nicht Glykogen, sondern unsubstituierte Glykolgruppen eine Rolle spielen. Eine deutliche Blaufärbung des Ependyms mit der Alcianblaufärbung und nachfolgender PAS-Färbung weist auf das Vorkommen von sauren Mucopolysacchariden hin.

2. Lipide

Schwarzbläuliche tropfige Einschlüsse konnten supranukleär in den Ependymzellen bei der Färbung mit Sudanschwarz B vereinzelt beobachtet werden. Diese im apikalen Zytoplasma der Ependymzellen angefärbten Bezirke blieben bei den Kontrollschnitten mit Pyridin-Extraktion nach Baker ungefärbt.

Zur Unterscheidung neutraler und saurer Lipide diente die Nilblaufärbung. Dabei waren die supranukleären Bereiche der Ependymzellen, wo mit der Sudanschwarz B-Färbung eine schwache Lipidreaktion nachgewiesen wurde, durch eine zwar schwache, aber doch sichtbare Blaufärbung gekennzeichnet. Rote Einschlüsse waren nicht zu beobachten, somit deutet diese Reaktion auf das Vorkommen von sauren Lipiden im Ependym hin. Die zusätzliche Oil-Red-O-Färbung mit negativer Reaktion lässt ebenfalls vermuten, dass in den untersuchten Ependymzellen Neutralfette fehlen.

Die geringen Reaktionen mit der Sudanschwarz B- und Nilblaufärbung dürften nur auf das Vorhandensein von Lipoiden zurückzuführen sein.

c) Enzym-zytochemische Untersuchungsbefunde

1. Alkalische Phosphatase

In allen untersuchten Ependymbezirken des III. Ventrikels von Rind, Schaf und Ziege konnte lichtmikroskopisch keine positive Reaktion gefunden werden. Vereinzelt Vorkommen von Bleipräzipitaten bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung kann wahrscheinlich als unspezifischer Niederschlag gedeutet werden. Im Gegensatz zu den Befunden an den Ependymzellen war die Reaktion an den Gefäßen im Gewebe positiv, was als Beweis für das Gelingen des Nachweises angesehen werden kann.

2. Saure Phosphatase (Abb. 10)

Lichtmikroskopisch konnten an manchen untersuchten Ependymbezirken einzeln liegende schwarze Körnchen supranukleär beobachtet werden. An anderen Stellen dagegen war eine mehr gleichmäßig dunkel gefärbte Schicht ebenfalls in den apikalen Zellbezirken zu sehen. In beiden Fällen handelte es sich um die Reaktionsprodukte der sauren Phosphatase, was in Kontrollversuchen bestätigt werden konnte. Sowohl die granuläre als auch die homogene Form der Phosphatase-Reaktion kamen bei Rind, Schaf und Ziege nebeneinander, ohne auf bestimmte Ependymbezirke festgelegt zu sein, vor.

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung fanden sich runde, etwa 0,1 – 0,3 µm große Zellorganellen, die mit verschiedenen elektronendichten Granula angefüllt und von einer Membran umgeben waren. Es handelt sich dabei nach der Definition von De DUVE (1966) um Lysosomen, die mit den Bleiphosphat-Niederschlägen der histochemischen Nachweisreaktion für saure Phosphatasen gefüllt sind.

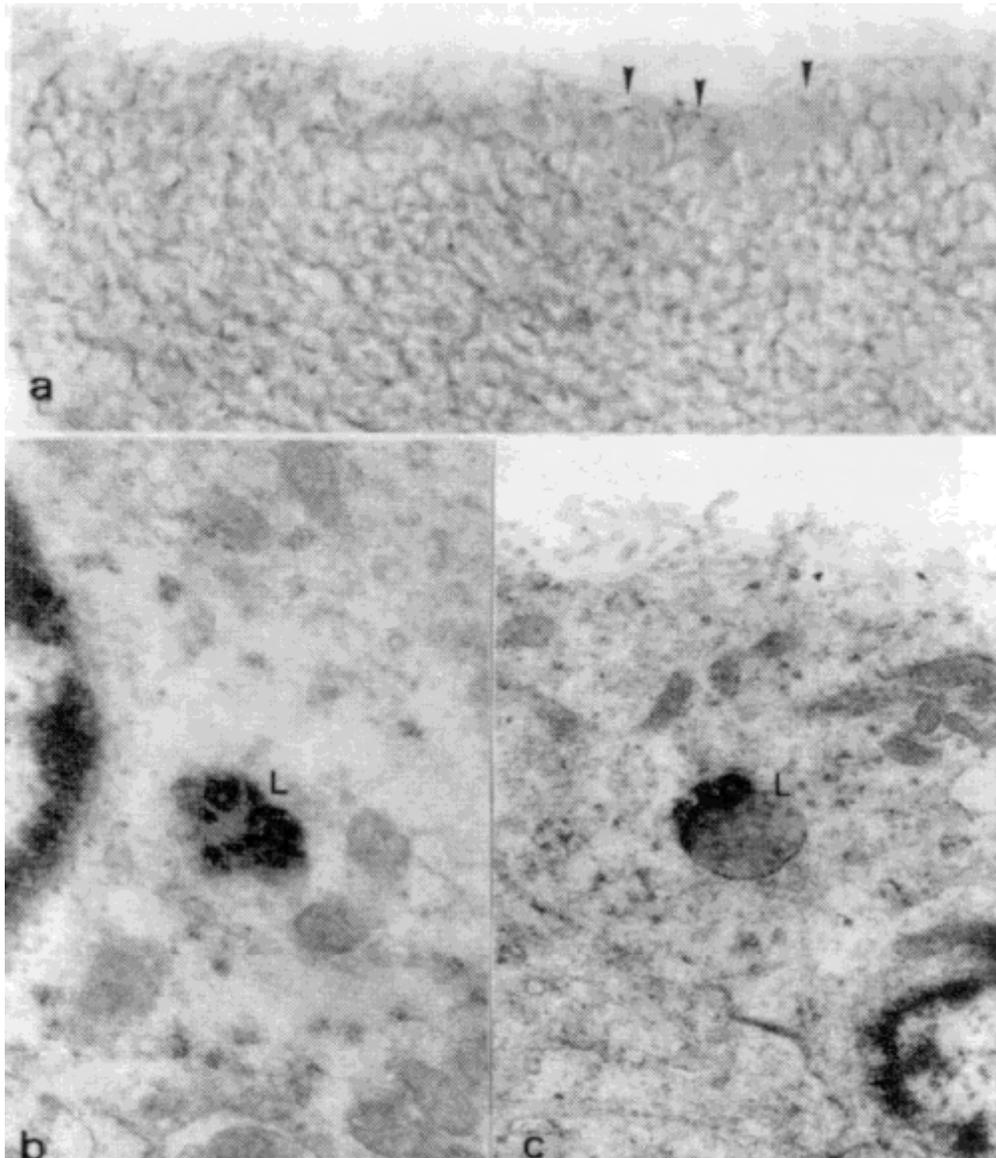


Abb. 10: Saure Phosphatase-Reaktion an Ependymzellen aus dem III. Ventrikel der Ziege.
a) Lichtmikroskopisch als granuläre Einschlüsse (Pfeil) in den apikalen Bezirken der Ependymzellen (Vergr. 561 x)
b) und c) elektronenmikroskopisch als lysosomaler Reaktionsbefund (L) (Vergr. b: 27000 x, c: 20000 x)

3. ATPasen (Abb. 11)

Nach SCHNORR (1971 b) bringen verschieden lange Inkubationszeiten auch unterschiedliche Ergebnisse. Diese Verfälschung der Ergebnisse ist einmal bedingt durch Spontanhydrolyse des Substrates ATP und zum anderen durch Änderung der Enzymlokalisation. Sowohl bei einer Inkubationszeit von 20 Min. bei Zimmertemperatur als auch von 30 Min. bei 37 °C waren die Versuchsreihen nicht auszuwerten, da durch Diffusion der Reaktionsprodukte die Ependymzellen so stark schwarz gefärbt waren, dass eine Feststellung über die Lokalisation der Enzymaktivität nicht getroffen werden konnte. Die besten Ergebnisse konnten licht- und elektronenmikroskopisch bei einer Inkubationszeit von 15 Min. bei Zimmertemperatur erzielt werden.

Lichtmikroskopisch lassen sich die Reaktionsprodukte der ATPasen als Bleisulfid-Niederschläge in Form von schwarzen senkrechten Streifen jeweils an den seitlichen Zellgrenzen nachweisen. Basal und gegen das Ventrikellumen hin fand sich keine Enzymaktivität. Dabei sind keine Aktivitätsunterschiede zwischen der Mg^{++} - (Mg^{++} - Na^+ - K^+) und der Ca^{++} -aktivierbaren ATPase festzustellen.

Histologische Schnitte, die mit Na- β -Glycerophosphat als Substrat ohne ATP inkubiert wurden, zeigten weniger intensiv dunkel gefärbte Streifen an den lateralen Zellgrenzen. Die Kontrollen (Inkubation ohne Substrat) waren ausnahmslos negativ. Spontanhydrolyse des Substrates ATP konnte bei 15-minütiger Inkubation nicht beobachtet werden.

Auch für die elektronenmikroskopische Untersuchung betrug die Inkubationszeit 15 Min. bei Zimmertemperatur wegen der oben beschriebenen Nachteile bei längeren Inkubationszeiten. Im Gegensatz zu dem lichtmikroskopischen Nachweis, wo lediglich an den lateralen Zellgrenzen Enzymaktivität

nachgewiesen wurde, ergab sich bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung ein wesentlich genaueres Bild: die Reaktionsprodukte waren in Form elektronendichter Granula sowohl lateral als auch basal an der äußeren Lamelle des Plasmalemmes zu finden. Im apikalen Bereich zeigte die Zellmembran, soweit sie sich an der Bildung der Haftkomplexe beteiligt, keine Reaktion. Vereinzelt konnten auch positive Reaktionen an Zellorganellen beobachtet werden. Zu berücksichtigen ist bei diesen Befunden, dass ein Teil der Enzymaktivität auf unspezifische Phosphatasen zurückzuführen ist. Die Versuche, bei denen ATP durch Na-β-Glycerophosphat ersetzt war, zeigten nur eine schwach positive Reaktion. Auch bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung konnten keine Aktivitätsunterschiede zwischen der Mg⁺⁺- (Mg⁺⁺-Na⁺-K⁺) und der Ca⁺⁺-aktivierbaren ATPase gesehen werden.

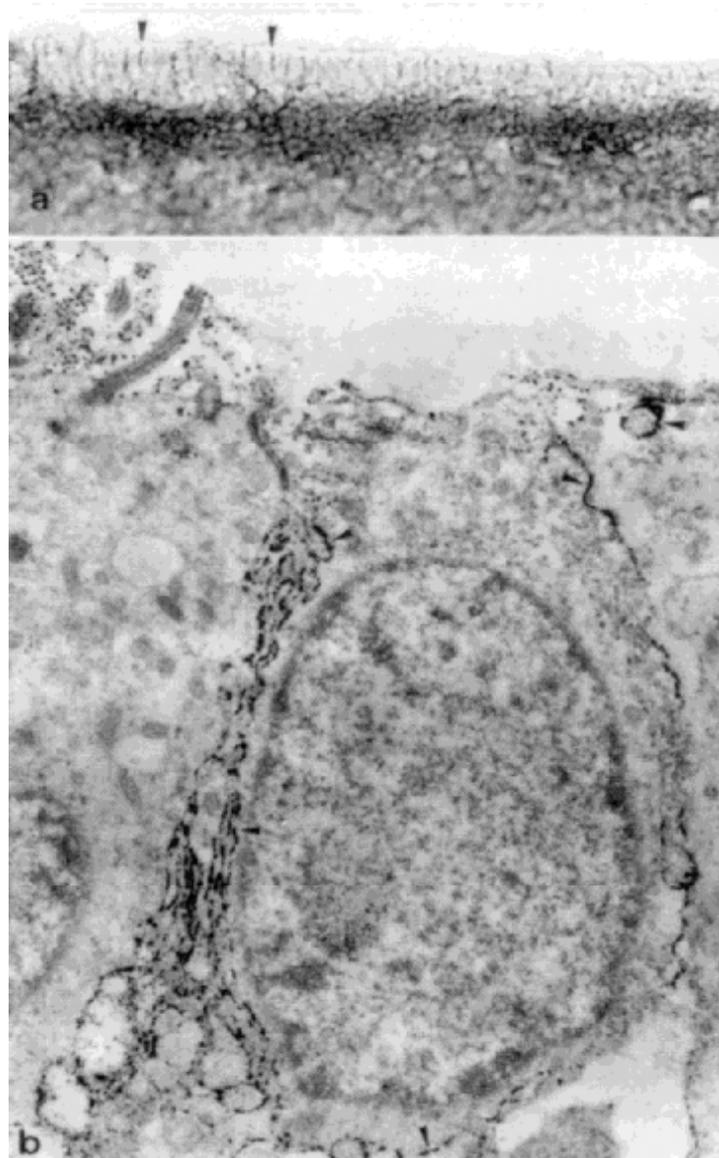


Abb. 11: ATPase-Reaktion (Pfeil) an Ependymzellen des III. Ventrikels der Ziege.
a) lichtmikroskopisch (Vergr. 328 x)
b) elektronenmikroskopisch (Vergr. 15000 x).

4. Unspezifische Esterasen (Abb. 12 und 13)

Lichtmikroskopisch ist beim zytochemischen Nachweis der unspezifischen Esterasen lediglich eine mäßig starke Aktivität in Form in dunkel tingierten Granula im supranukleären Bereich der Ependymzellen zu beobachten.

Elektronenmikroskopisch dagegen waren wie beim Nachweis der sauren Phosphatase die Reaktionsprodukte als kleine Granula innerhalb der Zellorganellen, die von einer Membran umgeben sind, anzutreffen. Nach der Definition von De DUVE (1966) handelt es sich dabei um Lysosomen.

Es findet somit auch hier wie beim Nachweis der sauren Phosphatase und der ATPase der lichtmikroskopische Befund erst Bestätigung durch den elektronenmikroskopischen Enzymnachweis.

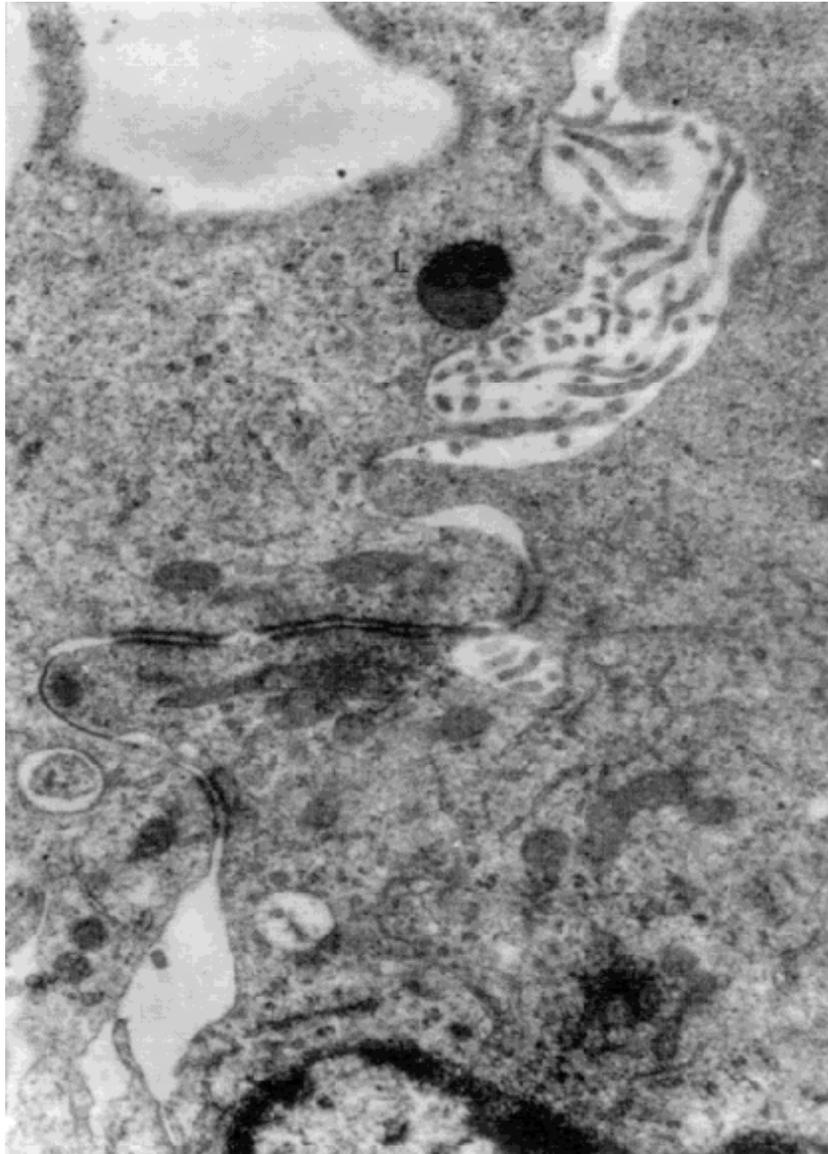


Abb. 12: Esterase-Reaktion an Lysosomen (L) der Ependymzellen aus dem III. Ventrikel der Ziege (Vergr. 27000 x).

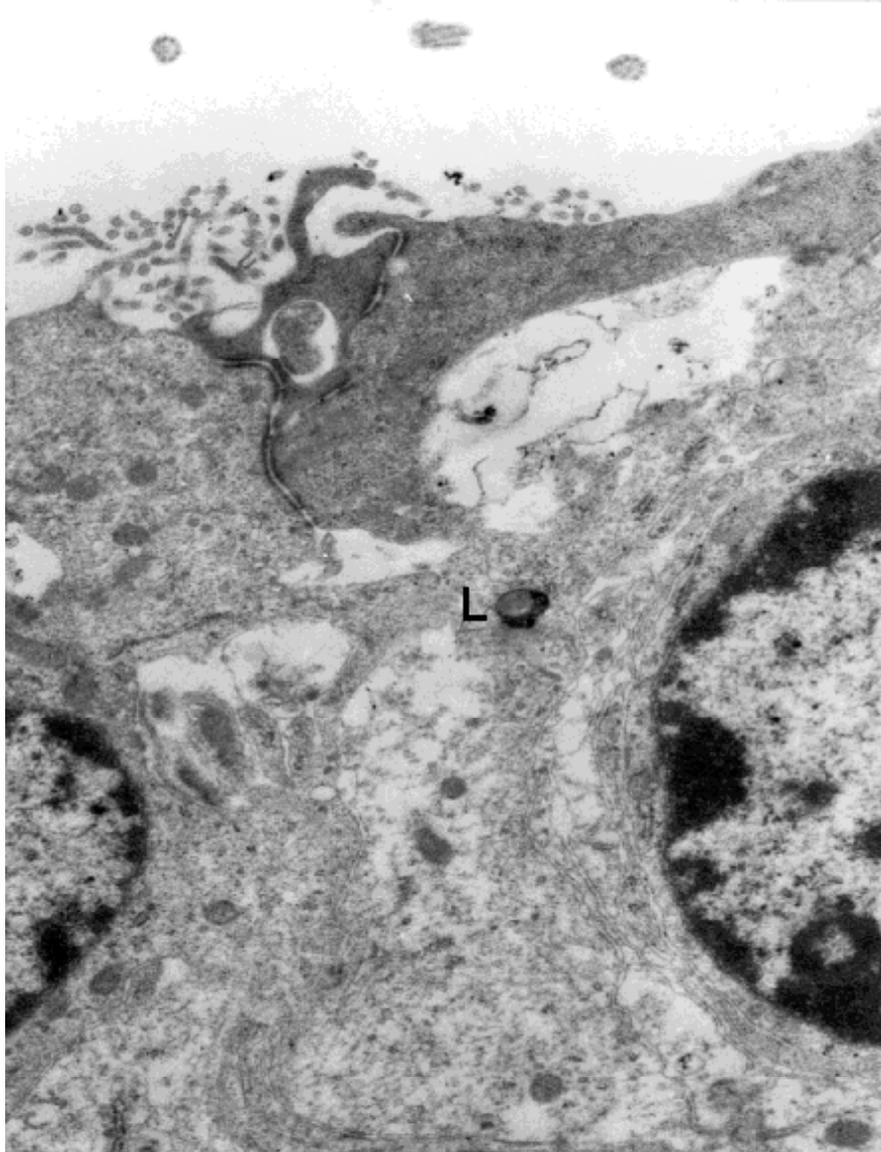


Abb. 13: Esterase-Reaktion an Lysosomen (L) der Ependymzellen aus dem III. Ventrikel der Ziege (Vergr. 20000 x).

5. Oxydoreduktasen

a) Nachweis der Monoaminoxidase (Abb. 14 a):

In den Ependymzellen der Haustierwiederkäuer war eine hohe Enzymaktivität in Form von blauschwarzen Formazangranula zu beobachten, die über die ganze Zelle verteilt waren. In der apikalen Zone traten diese vermehrt auf. Durch das Vorkommen dieser deutlich erkennbaren Granula nur im Ependym hebt sich diese enzymatische Zelllage deutlich von dem monoaminoxidase-negativen unter dem Ependym gelegenen Gewebe ab.

b) Nachweis der Cytochromoxydase (Abb. 14 b):

Der Nachweis fiel positiv aus, doch waren hier die blauschwarzen Reaktionsprodukte weniger zahlreich in den Ependymzellen als bei dem Monoaminoxidase-Nachweis.

c) Nachweis der Succinat-Dehydrogenase (Abb. 14 c):

Im Gegensatz zu den beiden vorhergehenden Nachweisen konnte eine nur schwache und apikal lokalisierte Enzymaktivität von Succinat-Dehydrogenase beobachtet werden.

Zu den drei nachgewiesenen Oxydoreduktasen wurden Kontrolluntersuchungen durchgeführt.

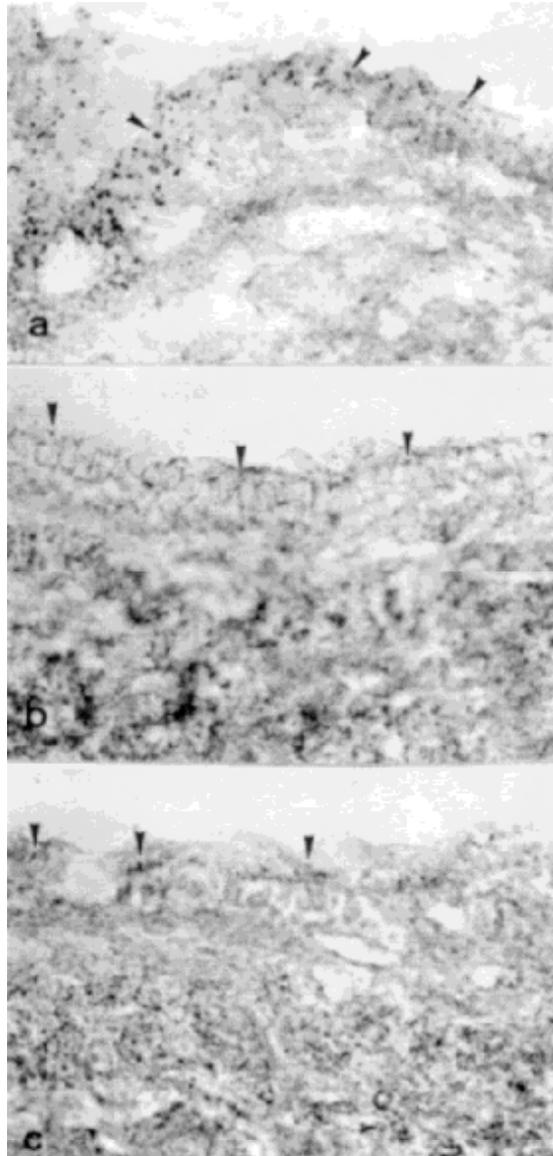


Abb. 14: Ependymzellen aus dem III. Ventrikel der Ziege.

- a) Monoaminoxidase-Reaktion (Vergr. 408 x)
- b) Cytochromoxydase-Reaktion (Vergr. 510 x)
- c) Succinat-Dehydrogenase-Reaktion (Vergr. 408 x).

IV. DISKUSSION

Aufgrund der *licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen* am Ependym des III. Ventrikels von Rind, Schaf und Ziege lassen sich morphologisch differente Bezirke erkennen, wie sie bereits bei niederen Wirbeltieren (HORSTMANN, 1954; ADAM, 1957; BRAAK, 1963; PAUL, 1967; ALTNER, 1968), bei der Katze (FLEISCHHAUER, 1959, 1960), beim Menschen (SCHIMRIGK, 1966), bei der Ratte (COLMANT, 1967; SCHACHENMAYR, 1967) und beim Meerschweinchen (WENZEL et al., 1970) beschrieben wurden.

Zwischen den drei markantesten Zelltypen gibt es mannigfaltige Übergangsformen, die eine exakte Festlegung eines Ependymzelltyps auf einen bestimmten Ventrikelabschnitt nur begrenzt zulassen. Die kubischen Ependymzellen, bewimpert und unbewimpert, sind im III Ventrikel vornehmlich im dorsalen und mittleren Bereich zu finden.

Die Tanyzyten dagegen sind hauptsächlich ventral im III. Ventrikel und dort v. a. am Übergang in den *Recessus infundibuli* zu beobachten.

Die endothelähnlichen Ependymzellen sind nur an wenigen Stellen, z. B. am Boden des *Recessus infundibuli* (DELLMANN, 1961) und des *Recessus opticus*, zu sehen.

Die Ausbildung dieser verschiedenen Ependymzelltypen erfolgt während der Embryogenese, wie Untersuchungen am Gehirn von Rattenembryonen (SCHACHENMAYR, 1967; SCHIEBLER und MITRO, 1969) und Hühnchenembryonen (KABISCH und LUPPA, 1972) zeigten. Hinweise auf die Funktionen des Ependyms geben morphologische Besonderheiten der verschiedenen Ependymzelltypen: Die Haftkomplexe zwischen benachbarten Ependymzellen bestehen aus dem oberflächlichen Abschnitt der *Zonula adhaerens* und der darunter befindlichen *Zonula occludens*. Eine *Macula adhaerens*, das

eigentliche Desmosom, fehlt (BRIGHTMAN und PALAY, 1963). Bei anderen Epithelien befindet sich apikal die *Zonula occludens*, der die *Zonula adhaerens* und die *Macula adhaerens* folgen (FAWCETT, 1961; FARQUHAR und PALADE, 1963 und 1965). Somit wird eine interzelluläre Passage von Stoffen aus dem Liquor zwischen den Ependymzellen hindurch besser ermöglicht, was auch mit Ferritin-Injektionen in den Ventrikel gezeigt werden konnte (BRIGHTMAN, 1965). Die Oberfläche der kubischen Ependymzellen ist reich an Mikrovilli, was zu einer Vergrößerung der Resorptionsfläche führt und an einen intrazellulären Stofftransport denken lässt. Die nötige Flüssigkeitsbewegung wird durch Kinozilien bewirkt, die aus neun randständigen Doppelfibrillen und einem zentral liegenden Fibrillenpaar bestehen (FAWCETT und PORTER, 1954; FAWCETT, 1958 und 1961). Im gleichen Sinne ist auch die vorwiegend lumenseitige Anordnung der Zellorganellen und die meist apikale Kerneinstülpung als Vergrößerung der Kernoberfläche zu deuten (BLINZINGER, 1962).

Während die kubischen Ependymzellen aufgrund ihrer Oberflächenstruktur und der supranukleär angeordneten Zellorganellen mehr auf eine resorptive Fähigkeit schließen lassen, müssen bei den Tanyzyten andere Funktionen angenommen werden. Eine überwiegende Resorptionstätigkeit dürfte bei diesen wegen der spärlichen Ausbildung von Mikrovilli auszuschließen sein. Vermutlich dienen die Tanyzyten einem Stoffaustausch zwischen Hypothalamus und Liquor. Dafür sprechen das Vorkommen von Tanyzyten am Übergang in den *Recessus infundibuli*, die zahlreichen Mitochondrien und andere Zellorganellen im peripheren Zellfortsatz und die innige Verbindung des Tanyzytenfortsatzes mit der Basalmembran subependymaler Kapillaren (LEONHARDT, 1966; RINNE, 1966; TAKEICHT, 1966; WITTKOWSKI, 1967 b). Diskutiert werden aufgrund dieser Befunde eine Oberflächenvergrößerung der Zelle durch periphere Zellfortsätze und damit ein verbesserter intrazellulärer Transport (HAGER und BLINZINGER, 1965). Auch an eine Rezeptorfunktion der Tanyzyten in Verbindung mit einem Rückkopplungsmechanismus des sekretorisch tätigen *Tractus tubero-hypophyseos*

über Tanyzyten, Liquor und spezielle Ganglienzellendigungen ist nach WITTKOWSKI (1967 b) zu denken.

Zusammenfassend kann von den Tanyzyten gesagt werden, dass nach den verschiedenen Untersuchungen von LÖFGREN (1960), VIGH et al. (1964), BRIGHTMAN (1965), SCHACHENMAYR (1967), WITTKOWSKI (1967 b), LEONHARDT (1969), LUPPA und FEUSTEL (1971) und KABISCH und LUPPA (1972) neben dem Stofftransport auch eine sekretorische und rezeptorische Funktion vermutet werden kann.

Das endothelartige Ependym dagegen dürfte nur als Gewebeabschluss zum Ventrikel hin ohne spezielle Aufgaben wie Sekretion, Resorption oder Rezeptorfunktion anzusehen sein.

Bei den *histochemischen Nachweisen* konnten in den kubischen Ependymzellen und Tanyzyten – einschließlich deren peripheren Fortsätze – PAS-positive Granula nachgewiesen werden, die diastaseresistent waren. Es ist somit das Vorkommen von Glykogen im Ependym des III. Ventrikels auch bei Rind, Schaf und Ziege auszuschließen, und es werden die Untersuchungsbefunde von SHIMIZU und KUMAMOTO (1952) an Maus, Ratte und Meerschweinchen und von TEICHMANN (1967) am Frosch bestätigt. Über das Vorkommen von Glykogen im Ependym niederer Wirbeltiere und winterschlafender Säuger in Beziehung zu anderen Säugern, sowohl im embryonalen als auch im adulten Gehirn, berichtete OKSCHE (1958 und 1961). Dabei wurden auch phylogenetische Gesichtspunkte erörtert.

Die negative PAS-Reaktion nach der Acetylierung und die schwach positive Reaktion nach der Enacetylierung weist auf das Vorhandensein von Glykolgruppen hin. Im Gegensatz zu den Beobachtungen von TEICHMANN

(1967) beim Frosch kann bei den Hauswiederkäuern aufgrund der deutlichen Blaufärbung des Ependyms mit der Alcianblaufärbung auf das Vorkommen von sauren Mucopolysacchariden geschlossen werden. Bei dem Nachweis von Lipiden kann mit dem Befund von TEICHMANN (1967) beim Frosch angenommen werden, dass es sich bei den Einschlüssen im Ependym auch bei den Hauswiederkäuern um ein Glycolipid handelt.

Im Gegensatz zu NANDY und BOURNE (1964), die eine stark positive Reaktion der *alkalischen Phosphatase* (Methode nach GOMORI, 1949) im Seitenventrikel der Ratte fanden, konnten bei meinen Untersuchungen lediglich in elektronenmikroskopischen Untersuchungen Bleipräzipitate beobachtet werden, die vermutlich auf unspezifische Reaktionen zurückzuführen sind. An den Gehirnkapillaren fiel die Reaktion dagegen deutlich positiv aus (FELGENHAUER, 1963). Dieser negative Reaktionsbefund am Ependym des III. Ventrikels von Rind, Schaf und Ziege deckt sich mit den Befunden von SHIMIZU (1950) bei Nagern, Katze und Hühnchen und von BARTONICEK und LOJDA (1964) und von COLMANT (1967) bei Nagern. Während zur Zeit der Ependymentwicklung eine positive Reaktion der alkalischen Phosphatase bei Hühnchenembryonen von KABISCH und LUPPA (1972) beobachtet werden konnte, war sie am ausdifferenzierten Hühnergehirn nur noch im ventrikelnahen Zellabschnitt der Wimpernependymzellen zu sehen. Ein ähnliches Verhalten konnte OKSCHE (1958) beim Vorkommen von Glykogen im Ependym niederer und höherer Wirbeltiere feststellen, was auf ein korrespondierendes Auftreten von Glykogen und alkalischer Phosphatase, die am Glykogenauf- und -abbau beteiligt sein soll, hinweist.

In zahlreichen Untersuchungen vornehmlich bei kleinen Laboratoriumstieren konnte lichtmikroskopisch am Ependym bisher regelmäßig eine positive Reaktion der *sauren Phosphatase* festgestellt werden (SHIMIZU, 1950; FELGENHAUER,

1963; NANDY und BOURNE, 1964; COLMANT, 1967; SCHACHENMAYR, 1967; WENZEL et al., 1970; KABISCH und LUPPA, 1972; LUPPA und FEUSTEL, 1972).

Auch am Ependym des III. Ventrikels der Hauswiederkäuer gelang der lichtmikroskopische Nachweis. Elektronenmikroskopisch war eine positive Reaktion in Form elektronendichter Granula in den Lysosomen zu sehen, für die nach der Definition von De DUVE und WATTIAUX (1966) die saure Phosphatase als Träger bzw. Leitenzym anzusehen ist. Diese Hydrolase ist gemeinsam mit anderen lysosomalen Enzymen für die intrazelluläre Verdauung verantwortlich. Außerdem zeigen die Befunde, dass die Zellorganellen im Ependym des III. Ventrikels hauptsächlich supranukleär zu finden sind. Diese Anordnung und das Vorkommen weiterer strukturgebundener Enzyme sieht SCHACHENMAYR (1967) im Zusammenhang mit einem aerob-oxydativen Stoffwechsel für die Aufrechterhaltung der Zilienfunktion. Unterschiedliche Ergebnisse brachten bisherige Untersuchungen über die *ATPase*-Aktivität im Ependym. Während FELGENHAUER (1963) im Ependym des Meerschweinengehirns keine *ATPase* nachweisen konnte, beschrieben NANDY und BOURNE (1964) am Ependym des Rattengehirns eine mäßige *ATPase*-Aktivität im apikalen Zytoplasma und im Zellkern, wo sie lokale stärkere Enzymreaktionen mit den Nucleoli in Verbindung brachten. SCHACHENMAYR (1967) beschrieb das Vorkommen der *ATPase* im mittleren Ependymabschnitt des III. Ventrikels der Ratte, das LUPPA und FEUSTEL (1970 a) dahingehend bestätigten, dass sie die *ATPase* mäßig stark apikal an der Zellmembran und stark in den Kernen der Ependymzellen nachweisen konnten. Ähnliche Ergebnisse brachten Untersuchungen von WENZEL et al. (1970) am Ependym des Meerschweinengehirns.

Meine Untersuchungen ließen lichtmikroskopisch eine ATPase-Aktivität lediglich an den seitlichen und basalen Zellgrenzen erkennen, was elektronenmikroskopisch bestätigt werden konnte. Vereinzelt apikal beobachtete Reaktionsprodukte dürften unspezifischer Natur sein. Das zeigten die Versuche, bei denen ATP durch Na-β-Glycerophosphat ersetzt war und ebenfalls apikale Reaktionen erkennbar waren.

Außerdem konnte mit dem elektronenmikroskopischen Nachweis das Fehlen von ATPase-Aktivität an den Zellmembranabschnitten, die an der Bildung von Haftkomplexen beteiligt sind, festgestellt werden. Damit wird auch im Ependym des III. Ventrikels die Vermutung von WILLE und SCHNORR (1970) unterstützt, dass sich an den Haftkomplexen aller Epithelien keine ATPase-Aktivität nachweisen lässt.

Als Enzyme biologischer Membranen sind die ATPasen durch Ca-Ionen (MAKINOSE und HASSELBACH, 1965) und Mg-Ionen (CARLSON et al., 1963; VOTH, 1966; HEGNER, 1969) aktivierbar. Für den aktiven interzellulären Transport dient eine Mg⁺⁺-abhängige ATPase, die durch Na⁺ und K⁺ weiter aktivierbar ist und ein Na-K-Transportsystem darstellt (SKOU, 1963; WINS und SCHOFFENIELS, 1966). An diesen primären Ionentransport können sekundäre Transporte von Metaboliten gebunden sein (CRANE, 1965; ALBERS, 1967; RING, 1970). So konnte ein aktiver Na-Transport im mehrschichtigen Plattenepithel der Froschhaut nachgewiesen werden (KOEFOED-JOHNSON und USSING, 1958; FARQUHAR und PALADE, 1966), an den nach DIAMOND (1964 a, b) der Wassertransport gebunden ist. Diese Na⁺-K⁺-aktivierbare Membran-ATPase kann durch Herzglykoside gehemmt werden (SCHATZMANN, 1966). Solche Transport-ATPasen konnten auch im Pansenepithel nachgewiesen werden (SCHNORR, 1971 b; TELLHELM, 1971; HENRIKSON, 1971).

Wie eingehende Untersuchungen über die *Esteraseaktivität* am Ependym des III. Ventrikels und dort besonders der Tanyzyten bei Ratte und Hühnchen (COLMANT, 1967; LUPPA und FEUSTEL, 1970 a, 1970 b, 1971; KABISCH und LUPPA, 1972) zeigten, handelt es sich bei den Esterasen meist um lysosomal gebundene Enzyme. Während lichtmikroskopisch die Esterase mit α -Naphthylacetat als Substrat lediglich als schwach granuläre Reaktion darstellbar war, konnte elektronenmikroskopisch mit Thioessigsäure als Substrat die Esteraseaktivität auch bei Hauswiederkäuern als deutlich in den Lysosomen lokalisiert nachgewiesen werden.

Extralyosomale Esterasen, wie sie KABISCH und LUPPA (1972) beim Hühnchenembryo als wahrscheinlich ribosomal gebundene Aliesterasen nachwiesen, konnten in den kubischen Ependymzellen von Rind, Schaf und Ziege nicht festgestellt werden.

In früheren Untersuchungen über *Oxydoreduktasen* am Ependym niederer Vertebraten und verschiedener Säugetiere (SHIMIZU und MORIKAWA, 1957; FRIEDE, 1961; COLMANT, 1967; SCHACHENMAYR, 1967; PAUL, 1968; WENZEL et al., 1970; LUPPA und FEUSTEL, 1970 a) konnte regelmäßig eine Enzymaktivität von Monoaminoxidase, Cytochromoxidase und Succinat-Dehydrogenase nachgewiesen werden. Aussagen über die Stärke der Enzymreaktionen können ohne „besondere Kontrollschritte“ nach PAUL (1968) allerdings nur bedingt gemacht werden.

Die auch in vorliegender Untersuchung vorwiegend apikal beobachtete Enzymaktivität ist nach PAUL (1968) im Zusammenhang mit resorptiven Vorgängen oder aktiver Sekretion von Stoffen in das Ventrikellumen zu sehen. SCHACHENMAYR (1967) und LUPPA und FEUSTEL (1970 a) dagegen sehen

die Anwesenheit oxydativer Enzyme in Verbindung mit einer für die Wimpernmotorik benötigte Energiebereitstellung.

Der positive Befund der Monoaminoxidase ist möglicherweise im Zusammenhang mit einem adrenergen Überträgermechanismus zu sehen, wenn man an die Funktion dieses Enzyms hinsichtlich seiner Inaktivierung von Erregerstoffen wie Noradrenalin und Serotonin und anderer biogener Amine denkt (NAUMANN, 1968).

V. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden am Ependym des III. Ventrikels von Rind, Schaf und Ziege lichtmikroskopische, elektronenmikroskopische und enzymhistochemische Untersuchungen durchgeführt.

Dabei wurden folgende Befunde erhoben:

1. Es lassen sich drei Formen von Ependymzellen unterscheiden: kubische Ependymzellen, Tanyzyten und endothelähnliche Ependymzellen. Nach den elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten alle drei Zelltypen eine deutliche Gliederung in eine basale und eine apikale Zone mit unterschiedlicher Anreicherung von Zellstrukturen.
2. Glykogen konnte im Ependym der untersuchten Tiere nicht nachgewiesen werden. Dagegen war der Lipidnachweis positiv, ebenso der Nachweis auf saure Mucopolysaccharide.
3. Während im Ependym des III. Ventrikels alkalische Phosphatase nicht beobachtet wurde, konnte eine Aktivität der sauren Phosphatase festgestellt werden, die an Lysosomen gebunden ist.
4. ATPasen waren im Ependym des III. Ventrikels deutlich entlang des seitlichen und basalen Plasmalemmis sowie an den Membranen von Zellorganellen zu sehen.
5. Unspezifische Esterase war elektronenmikroskopisch eindeutig erkennbar.

6. Von den Oxydoreduktasen war die Monoaminoxidase-Aktivität deutlich nachzuweisen. Cytochromoxydase war ebenfalls festzustellen, während die Succinat-Dehydrogenase nur in schwacher Enzymaktivität vorkam.

Die Befunde wurden hinsichtlich der Funktion des Ependyms und im Zusammenhang mit Ergebnissen anderer Autoren diskutiert.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- ADAM, H.: Beitrag zur Kenntnis der Hirnventrikel und des Ependyms bei den Cyclostomen.
Verh. Anat. Ges. Stockholm 1956
Anat. Anz. Erg.-Bd. 103, 173-188 (1957)
- ALBERS, R. W.: Biochemical aspects of active transport.
Ann. Rev. Biochem. 36, 727-756 (1967)
- ALTNER, H.: Untersuchungen an Ependym und Ependymorganen im Zwischenhirn niederer Wirbeltiere (Neoceratodus, Urodelen, Anuren).
Z. Zellforsch. 84, 102-104 (1968)
- BARTONICEK, V., and Z. LOJDA: Topochemistry of enzymes of chorioid plexus and ependyma of four animal species. I. Hydrolytic enzymes.
Acta histochem. (Jena) 19, 357-368 (1964)
- BLINZINGER, K.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Ependym der Hirnventrikel des Goldhamsters.
Acta Neuropathol. 1, 527-532 (1962)
- BODIAN, D.: The staining of paraffin section of nervous tissues with activated protargol. The role of fixatives.
Anat. Rec. 69, 153-162.
- BRAAK, H.: Das Ependym der Hirnventrikel von *Chimaera monstrosa* mit besonderer Berücksichtigung des *Organon vasculosum praeopticum*.
Z. Zellforsch. 60, 582-608 (1963)

BRIGHTMAN, M. W., and S. L. PALAY: The fine structure of ependyma in the brain of the rat.

J. Cell Biol. 19, 415-439 (1963)

BRIGHTMAN, M. W.: The distribution within the brain of ferritin injected into cerebrospinal fluid compartementes. I. Ependymal distribution.

J. Cell Biol. 26, 99-123 (1965 b)

BRÜCKNER, G.: Funktionelle Morphologie der hypophysären Glia nach Durchtrennung des Hypophysenstiels bei *Rena esculenta* (L.).

Gegenb. Morph. Jb. (Leipzig) 118, 52-80 (1972)

BURSTONE, M. S.: New histochemical technique for the demonstration of tissue oxydase (cytochrome oxydase).

J. Histochem. Cytochem. 7, 112-122 (1959)

CARLSON, A., N. A. HILLARP, and B. WALDECK: Analysis of the Mg⁺⁺-ATP dependent storage mechanism in the amine granules of the adrenal medulla.

Acta physiol. Scand. 59, 215-238 (1963)

CLARA, M.: Das Nervensystem des Menschen.

Joh. Ambrosius Barth Verlag Leipzig, 1959.

COLMANT, H. J.: Über die Wandstruktur des dritten Ventrikels der Albinoratte.

Histochemie 11, 40-61 (1967)

CRANE, R. K.: Na⁺-dependent transport in the intestine and other animal tissues.

Fed. Proceed. 24, 1000-1006 (1965)

- DELLMANN, H.-D.: Histologische Untersuchungen über den Feinbau der *Zona interna* des *Infundibulum* beim Rind.
Acta morph. neerl.-scand. 4, 1-30 (1961)
- De DUVE, Ch.: The lysosome concept. In: Ciba Foundation Symposium.
Lysosomes.
Churchill, London, 1-31 (1963)
- De DUVE, Ch., and R. WATTIAUX: Function of lysosomes.
Ann. Rev. Physiol. 28, 435-492 (1966)
- DIAMOND, J. M.: Transport of salt and water in rabbit and guinea-pig gall bladder.
J. Gen. Physiol. 48, 1-14 (1964 a)
- DIAMOND, J. M.: The mechanism of isotonic water transport.
J. Gen. Physiol. 48, 15-42 (1964 b)
- ELLENBERGER-BAUM: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere.
18. Aufl. Berlin, Springer, 1943
- FANKHAUSER, R. und H. LUGINBUHL: Pathologische Anatomie des zentralen und peripheren Nervensystems der Haustiere.
Verlag P. Paray, Berlin, 1968
- FARQUHAR, M. G., and G. E. PALADE: Junctional complexes in various epithelia.
J. Cell Biol. 17, 375 (1963)
- FARQUHAR, M. G., and G. E. PALADE: Cell junctions in amphibian skin.
J. Cell Biol. 26, 263-291 (1965)

FARQUHAR, M. G., and G. E. PALADE: Adenosine triphosphatase localization in amphibian epidermis.

J. Cell Biol. 30, 359-379 (1966)

FAWCETT, D. W.: Structural specializations of the cell surface. In: PALAY, S. L.: *Frontiers in Cytology*, p. 19-41.

New Haven: Yale University Press 1958.

FAWCETT, D. W.: Cilia and flagella. In: BRACHET, J., and A. E. MIRSKY: *The Cell*, Vol. II, pp. 197-217.

New York and London: Academic Press 1961

FAWCETT, D. W.: Intercellular bridges.

Exp. Cell Res. Suppl. 8, 174-187 (1961)

FAWCETT, D. W., and K. R. PORTER: A study of the fine structure of ciliated epithelia.

J. Morph. 94, 221-282 (1954)

FELGENHAUER, K.: Die Lokalisation der spezifischen und unspezifischen Phosphatasen im Meerschweinchenhirn.

Z. Zellforsch. 60, 518-531 (1963)

FLEISCHHAUER, K.: Untersuchungen am Ependym des Zwischen- und Mittelhirns der Landschildkröte (*Testudo graeca*).

Z. Zellforsch. 46, 729-767 (1957)

FLEISCHHAUER, K.: Zur vergleichenden Anatomie und Elektronenmikroskopie des Ependyms.

Zool. Anz. Suppl. 22, 265-269 (1959)

- FLEISCHHAUER, K.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an der Faserglia. I. Beobachtungen an den Wandungen der Hirnventrikel der Katze (Seitenventrikel, III. Ventrikel).
Z. Zellforsch. 51, 467-496 (1960)
- FRIEDE, R. L.: Surface structures of the aquaeduct on the ventricular walls. A morphologic, comparative and histochemical study.
J. comp. Neurol. 116, 229-238 (1969)
- GLENNER, G. G., H. J. BURTNER, and G. W. BROWN: The histochemical demonstration of monoamine oxidase activity by tetrazolium salts.
J. Histochem. Cytochem. 5, 591-600 (1957)
- GOEBEL, A. und H. PUCHTLER: Untersuchungen zur Methodik der Darstellung der Succinodehydrogenase im histologischen Schnitt.
Virchows Arch. path. Anat. 326, 312-331 (1955)
- GOMORI, G.: Further studies on the histochemical specificity of phosphatases.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72, 449 (1949)
- HAGER, H. und K. BLINZINGER: Über eigenartige Astrozytenfortsätze und intracytoplasmatische Vesikelreihen (elektronenmikroskopische Untersuchungen an Glisosen des Säugetiergehirns).
Z. Zellforsch. 65, 57-73 (1965)
- HEGNER, D.: Kationenabhängige Membran-ATPasen in lysosomalen Granula aus polymorphkernigen Rinderleukozyten.
Arch. Pharm. exp. Path. 263, 406-416 (1969)

- HENRIKSON, R. C.: Mechanism of sodium transport across ruminal epithelium and histochemical localization of ATPase.
Exptl. Cell Res. 68, 456-458 (1971)
- HOLZER, W.: Über eine neue Methode der Gliafaserfärbung.
Z. ges. Neur. 69, 354-363 (1921)
- HORSTMANN, E. : Die Faserglia des Selachiergehirns.
Z. Zellforsch. 39, 588-617 (1954)
- HUGON, J., and M. BORGERS: A direct lead method for the electron microscopic visualization of alkaline phosphatase activity.
J. Histochem. Cytochem. 14, 429-432 (1966 a)
- HUGON, J., and M. BORGERS: Fine structure localization of lysosomal enzymes in the absorbing cells of the duodenal mucosa of the mouse.
J. Cell Biol. 33, 212-218 (1967)
- KABISCH, H. und H. LUPPA: Ein Beitrag zur Entwicklung des Enzymmusters im Ependym des III. Ventrikels beim Hühnerembryo.
Gegenb. Morph. Jb. (Leipzig) 118, 187-205 (1972)
- KLÜVER, H., and E. BARRERA: A method for the combined staining of cells and fibres in the nervous system.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 12, 400-403 (1953)
- KOEFOED-JOHNSON, V., and H. H. USSING: Nature of the frog skin potential.
Acta physiol. scand. 42, 298-308 (1958)

- LEONHARDT, H.: Über ependymale Tanyzyten des III. Ventrikels beim Kaninchen in elektronenmikroskopischer Betrachtung.
Z. Zellforsch. 74, 1-11 (1966)
- LEONHARDT, H.: Ependym. In: G. STERBA: Zirkumventrikuläre Organe und Liquor.
Jena: Fischer-Verlag 177-190 (1969)
- LÖFGREN, F.: The infundibular recess, a component in the hypothalamo-adenohypophysical system.
Acta morph. neerl.-scand. 3, 55-78 (1960)
- LUPPA, H. und G. FEUSTEL: Histoenzymologische Differenzierung der Ependymauskleidung des III. Ventrikels von Albinoratten unter normalen und experimentellen Bedingungen.
Erg. Exp. Med. 3, 367-376 (1970 a)
- LUPPA, H. und G. FEUSTEL: Zur Kennzeichnung der Esteraseaktivität in den Tanyzyten des *Recessus infundibuli* der Ratte.
Acta histochem. 35, 198-199 (1970 b)
- LUPPA, H., and G. FEUSTEL: Localization and characterization of hydrolytic enzymes of the IIIrd ventricle lining in the region of the *Recessus infundibularis* of the rat. A study on the function of the ependyme.
Brain Res. 29, 253-270 (1971)

MAKINOSE, M. und HASSELBACH: Der Einfluss von OXALAT auf den Calcium-Transport isolierter Vesikel des sarkoplasmatischen Retikulums.

Biochem. Z. 343, 360-382 (1965)

MILLER, F., and G. E. PALADE: Lytic activities in renal protein absorption droplets.

J. Cell Biol. 23, 519-552 (1964)

NACHLAS, M. M., and A. M. SELIGMAN: The histochemical demonstration of esterase.

J. nat. Cancer Inst. 9, 415-425 (1945)

NANDY, K., and G. H. BOURNE: Histochemical studies on the ependyma lining the lateral ventricle of the rat with a note on its possible functional significance.

Ann. Histochem. 9, 305-314 (1964)

NAUMANN, W.: Histochemische Untersuchungen am Subcommissuralorgan und am Reissnerschen Faden von *Lampetra planeri* (BLOCH).

Z. Zellforsch. 48, 571-591 (1968)

OKSCHE, A.: Der histochemisch nachweisbare Glykogenaufbau und -abbau in den Astrozyten und Ependymzellen als Beispiel einer funktionsabhängigen Stoffwechselaktivität der Neuroglia.

Z. Zellforsch. 54, 307-361 (1961)

- PAUL, E.: Über die Typen der Ependymzellen und ihre regionale Verteilung bei *Rana temporaria* L. mit Bemerkungen über die Tanycytenglia.
Z. Zellforsch. 80, 461-487 (1967)
- PAUL, E.: Histochemische Studien an den *Plexus chorioidei*, an der Paraphyse und am Ependym von *Rana temporaria* L.
Z. Zellforsch. 91, 519-546 (1968)
- RING, K.: Einige Aspekte des aktiven Aminosäuretransportes.
Angew. Chemie 82. Jahrg. 1970, Nr. 9, 343-355
- RINNE, U. K.: Ultrastructure of the median eminence of the rat.
Z. Zellforsch. 74, 98-122 (1966)
- RYTER, A. et E. KELLENBERGER: L'inclusion au polyester pour l'ultramicrotomic.
J. Ultrastruct. Res. 2, 200-214 (1958)
- SABATINI, D. D., K. G. BENSCH, and R. J. BARNETT: Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation.
J. Cell Biol. 17, 19-58 (1967)
- SCHACHENMAYR, W.: Über die Entwicklung von Ependym und *Plexus chorioideus* der Ratte.
Z. Zellforsch. 77, 25-63 (1967)
- SCHATZMANN, H. J.: ATP-dependent Ca^{++} -extrusion from human red cells.
Experientia (Basel) 22, 364-365 (1966)

- SCHIEBLER, T. H. und A. MITRO: Über die Entwicklung des Ependyms. In: G. STERBA: Zirkumventrikuläre Organe und Liquor. Jena: Fischer-Verlag 219-222 (1969)
- SCHIMRIGK, K.: Über die Wandstruktur der Seitenventrikel und des dritten Ventrikels beim Menschen. Z. Zellforsch. 70, 1-20 (1966)
- SCHNORR, B.: Histochemische, elektronenmikroskopische und biochemische Untersuchungen über die ATPasen im Vormagenepithel der Ziege. Z. Zellforsch. 114, 365-389 (1971 b)
- SHIMIZU, N.: Histochemical studies on the Phosphatase of the Nervous System. J. of comparative Neurology 93, 201-217 (1950)
- SHIMIZU, N., and T. KUMAMOTO: Histochemical studies on the glycogen of the mammalian brain. Anat. Rec. 114, 479-497 (1952)
- SHIMIZU, N., and N. MORIKAWA: Histochemical studies of succinic dehydrogenase of the brain of mice, rats, guinea pigs and rabbits. J. Histochem. Cytochem. 5, 334-345 (1957)
- SKOU, J. C.: Studies on the Na⁺ and K⁺ activated ATP hydrolysing enzyme system. The role of SH-groups. Biochem. biophys. Res. Commun. 10, 79-84 (1963)

- TAKEICHI, M.: The fine structure of ependymal cells. Part 1. The fine structure of ependymal cells in the kitten.
Arch. histol. jap., Vol. 26, 483-505 (1966)
- TEICHMANN, J.: Vergleichende histochemische Studien über die Gomori-positive Substanz des Ependyms und der hypendymalen Gliazellen im Frosch.
Z. f. mikroskop. anat. Forsch. 76, 12-25 (1967)
- TELLHELM, B.: Die Isolierung und biochemische Charakterisierung von Plasmamembranen aus Pansenepithelzellen. (Untersuchungen über Transport-ATPasen und deren Beeinflussung durch mono- und divalente Ionen sowie einige Hemmstoffe in Verbindung mit Transportphänomenen der Pansenschleimhaut).
Diss. med. vet. Gießen, 1971
- VIGH, B., B. AROS, P. ZARÁND, J. TÖRK, and T. WENGER: Ependymal neurosecretion. II. Gomori-positive secretion in the paraventricular organ and the ventricular ependyma of different vertebrates.
Acta morph. Acad. Sci. hung. 11, 335-350 (1962)
- VOTH, D.: Untersuchungen über die ATPase-Aktivität im Zytoplasma der Epithelzellen vom *Plexus chorioideus* des Rindes.
Enzym. biol. clin. 7, 203-214 (1966)
- WACHSTEIN, M., and E. MEISEL: On the histochemical demonstration of glucose-6-phosphatase.
J. Histochem. Cytochem. 4, 592 (1956)

- WENZEL, J., D. KUNDE, E. DAVID und A. HECHT: Enzymhistochemische Befunde am Subkommissuralorgan, am Ependym und an den *Plexus chorioidei* des Meerschweinengehirns (*Cavia porcellus L.*).
Z. f. mikroskop. anat. Forsch. 82, 243-263 (1970)
- WILLE, K.-H. und B. SCHNORR: Histochemische und elektronenoptische Untersuchungen über Adenosintriphosphatasen des endometrialen Oberflächen- und Drüsenepithels der Ziege (*Capra hircus*).
Z. Zellforsch. 110, 284-300 (1970)
- WINS, T., and E. SCHOFFENIELS: Studies on red cell ghost ATPase systems: Properties of a (Mg⁺⁺+Ca⁺⁺)-dependent ATPase.
Biochem. biophys. Acta (Amst.) 120, 341-350 (1966)
- WITTKOWSKI, W.: Zur Ultrastruktur der ependymalen Tanyzyten und Pituicyten sowie ihre synaptische Verknüpfung in der Neurohypophyse des Meerschweinchens.
Acta anat. (Basel) 67, 338-360 (1967b).

Lebenslauf

Am 4. März 1945 wurde ich als zweiter Sohn des Apothekers Franz Xaver Merl und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Hundt, in Oberaudorf geboren.

Nach der Grundschule besuchte ich die Oberschule in München, Offenbach und Laubach, wo ich an der Paul-Gerhardt-Schule am 21.02.1966 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Sommersemester 1966 an studierte ich Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen. Den dritten Abschnitt der Tierärztlichen Prüfung bestand ich am 10. November 1971 und bekam am 22. November 1971 die Approbation als Tierarzt erteilt.

Vom 1. Januar 1972 bis 31. Mai 1972 war ich bei Dr. E. Merkel, Laubach, halbtätig in der Praxis tätig.

Seit dem 1. Juni 1972 bin ich als wissenschaftlicher Bediensteter am Veterinär-Anatomischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen beschäftigt.

Herrn Prof. Dr. H. Goller danke ich für die Überlassung des Themas sowie seine vielseitigen Anregungen und tatkräftige Unterstützung.

Ferner danke ich allen Angehörigen des Veterinär-Anatomischen Instituts für jederzeit gewährte Hilfsbereitschaft, insbesondere meiner Frau für wertvolle technische Mitarbeit.