

In der vorliegenden Arbeit wurde am fetalen bovinen Gehirn eine lektinhistochemische Untersuchung zur Entwicklung der Mikrogliazellpopulation durchgeführt. Untersucht wurden Gehirngewebe von drei Rinderembryonen, von 50 Rinderfeten zwischen dem zweiten und neunten Monat, von drei Kälbern bis zur zweiten Lebenswoche, von zwei Jungrindern und fünf adulten Tieren. Zur Identifizierung der Mikroglia fanden drei Galaktose-spezifische Lektine Anwendung: *Griffonia simplicifolia*-Agglutinin, *Isolektin B₄* (GSA I-B₄), *Ricinus communis*-Agglutinin (RCA I) und *Mistellektin* (ML I). Als Nachweissysteme dienten die Avidin-Biotin-Komplex-Peroxidasemethode und die indirekte Peroxidasemethode. Die Untersuchungen wurden an Bouin- und Formaldehyd-fixierten Paraffinschnitten durchgeführt. Die Lokalisationen stammten aus Transversalschnitten, die von rostral nach kaudal durch die fünf Hauptabschnitte des Gehirns (Tel-, Di-, Mes-, Met- und Myelencephalon) gelegt wurden.

Mit Hilfe der in dieser Arbeit etablierten lektinhistochemischen Methoden gelang der Nachweis von zwei verschiedenen Phänotypen der Mikroglia. Der *amöboide* (unreife) Isotyp war mit allen drei Lektinen sowohl in Bouin- als auch nach Trypsinierung in Formaldehyd-fixiertem Gehirngewebe nachweisbar. Die Darstellung mit RCA I erforderte eine Mikrowellenbehandlung der Schnitte; für die Reaktion mit GSA I-B₄ war die Vorbehandlung mit Mikrowellen an Bouin-fixiertem Gewebe entbehrlich. Die *ramifizierte* Form ließ sich mit allen drei Lektinen am Bouin-fixierten Material erfassen. In Formaldehyd-fixierten Schnitten fiel das Ergebnis mit RCA I jedoch negativ aus. Für alle Lektine galt, daß in Bouin-fixiertem Gewebe mehr Mikrogliazellen dargestellt werden konnten und daß der Nachweis der ramifizierten Formen früher als an Formaldehyd-fixiertem Gewebe möglich war.

Die *amöboide* Mikrogliazelle war in den lektinhistochemischen Präparaten durch einen breiten Zytoplasmasaum mit Vakuolen und Granula gekennzeichnet. Die unreife Isoform zeichnete sich bei den drei Lektinen gegenüber der *ramifizierten* Form durch ein intensiveres Reaktionsprodukt im Zelleib aus. Sog. *Übergangszellen* mit breiten Fortsätzen spiegelten den morphologischen Wandel von der runden in die fortsatztragende Zelle wider. Bezüglich der Topographie der Mikrogliazellen ließ der *amöboide* Isotyp eine charakteristische Nesterbildung erkennen, hingegen wies die *ramifizierte* Mikroglia ein diffuses Verteilungsmuster auf.

Die sequentielle Untersuchung der Feten unterschiedlicher Altersstufen hinsichtlich des zeitlichen Auftretens der Isoformen ergab, daß die unreife, *amöboide* Isoform vom zweiten Fetalmonat an bis nach der Geburt vorhanden war. Dabei ließ sich nach einer Zunahme der Zellzahl im dritten Fetalmonat eine ab dem sechsten bzw. siebten Monat eintretende Abnahme der Zellzahl beobachten. *Übergangszellen* wurden im Zeitraum vom dritten bis sechsten

Fetalmonat nachgewiesen. *Ramifizierte* Formen mit filigranen Fortsätzen traten vereinzelt ab dem vierten Fetalmonat und verstärkt ab dem sechsten Monat auf.

Die mögliche funktionelle Bedeutung der *amöboiden* Mikroglia für die Ontogenese des Gehirns sowie potentielle Aufgaben der *ramifizierten* Form wurden diskutiert. Hinsichtlich der zytogenetischen Herkunft, die zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht endgültig geklärt ist, ergaben sich Hinweise auf einen monozytären Ursprung. Es wurden außer den Mikrogliazellen leptomeningeale und intraventrikuläre Makrophagen sowie Epiplexuszellen lektinhistochemisch markiert.

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß mit GSA I-B₄ und ML I zwei Lektine zur Verfügung stehen, die die Darstellung der Mikroglia-Subtypen im fetalen und postfetalen bovinen Gehirn am Paraffinschnitt ermöglichen.

Gabriele Schultheis:

Lectin labelling of microglial cells in the fetal and postfetal bovine brain

In this study the development of microglial cells in the bovine brain was examined by lectin histochemistry. To this end the brains of 3 embryos, 50 fetuses aged between two and nine months, three calves up to the age of two weeks, two young bovines of three and eight months and five cows were examined. For the identification of microglial cells three lectins were applied which have a selective affinity for galactose: *Griffonia simplicifolia*-agglutinin, *isolectin B₄* (GSA I-B₄), *Ricinus communis*-agglutinin (RCA I) and *mistletoe lectin* (ML I). The lectin binding was detected with the avidin-biotin-complex peroxidase method as well as the indirect peroxidase method. The methods were applied on paraffin wax sections of bovine tissue fixed in Bouin's fluid and formaldehyde. The tissue was sliced coronally beginning from rostral to caudal considering the five main brain segments (tel-, di-, mes-, met- and myelencephalon).

After having established the lectin histochemical methods it was possible to detect two different phenotypes of microglial cells. The *amoeboid* (immature) isotype was labelled with all three lectins in tissues either fixed in Bouin's fluid or formaldehyde, the latter being pretrypsinized. To demonstrate RCA I binding it was necessary to pretreat the sections with microwaves; on the contrary the application of microwaves was unnecessary for the reaction with GSA I-B₄ in sections fixed in Bouin's fluid. The *ramified* form could be detected with all three lectins in Bouin-fixed sections. However, in sections fixed in formaldehyde the use of RCA I was ineffective. For all lectins it was true that more microglial cells were detectable in Bouin-fixed sections and that the ramified forms could be marked earlier than in tissues fixed in formaldehyde.

In lectin histochemical preparations the *amoeboid* microglial cell was characterized by a large cytoplasm containing vacuoles and granules. The special feature of the immature isoform detected by the three lectins was the more intense reaction product compared to the one in the small cytoplasm and processes of the *ramified* forms. So-called *intermediate* cells with broad processes reflected the morphological transformation from round to ramified cells. As far as topography was concerned the *amoeboid* isotype formed characteristic nests, whereas the *ramified* cells were distributed diffusely in the parenchyme.

The sequential examination of the occurrence of microglial cells in fetuses of different age groups resulted in the observation that the immature *amoeboid* isoform was present from the

second fetal month until shortly after birth. From the third fetal month onwards an increase in cell number could be noticed which was followed by a diminution beginning in the sixth or seventh month. *Intermediate* forms were detectable within a period from the third to sixth month during fetal development. *Ramified* cells with attenuated processes appeared sporadically in the fourth fetal month for the first time and increased in number from the sixth month onwards.

The possible functional significance of the *amoeboid* microglia for brain development as well as potential roles of the *ramified* form were discussed. With regard to the cytogenetic origin which is still controversial an origin from monocytes appears likely. Apart from microglial cells leptomeningeal and intraventricular macrophages as well as epilexus cells were labelled by lectin histochemistry.

The present study shows that the two lectins GSA I-B₄ and ML I are suitable for labelling microglial subtypes of fetal and postfetal bovine brain in paraffin wax sections.