

## Neues gkf-Projekt

# Wie entsteht Kurzköpfigkeit?

*Kurzköpfigkeit oder Brachycephalie ist ein wichtiges Merkmal bestimmter Hunderassen. Die Arbeitsgruppen um Martin Schmidt und Carsten Staszyc an der Justus-Liebig-Universität Gießen untersuchen die Entstehung einer gegenüber der „Kurznasigkeit“ häufig übersehenen Form der Kurzköpfigkeit, nämlich die Verkürzung des Hirnschädels.*

Brachycephalie wird meist nur mit einer Verkürzung des Gesichtsschädels, insbesondere der Nase und des Fangs, gleichgesetzt, dass die Kurzköpfigkeit auch erhebliche Auswirkungen auf die Form des Hirnschädels hat, wird häufig ignoriert. So werden kurzköpfige Hunderassen mit einer bestimmten Schnauzenlänge oftmals gar nicht als Brachycephale wahrgenommen, wie zum Beispiel der Cavalier King Charles Spaniel (CKCS).

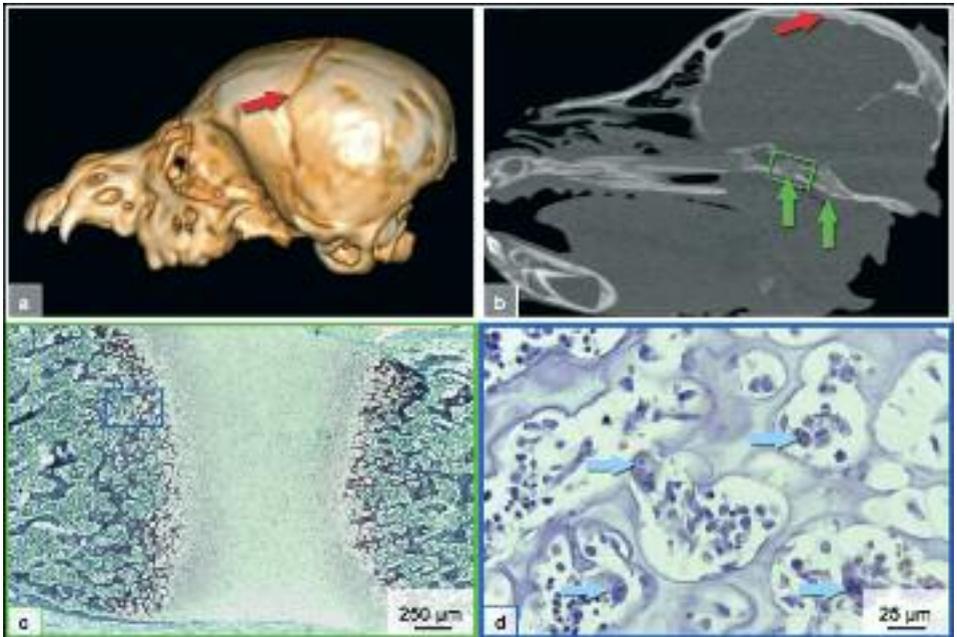
Dabei hat diese Rasse, trotz ihrer relativ langen Schnauze, sogar einen stark verkürzten Hirnschädel, wie Martin Schmidt in vorangegangenen Studien feststellte. Bei dieser Rasse kommt es durch eine unkoordinierte Entwicklung von Schädeldach und Schädelbasis zu einem Wachstum des Hirnschädels in die Breite, damit das Gehirn überhaupt Platz findet. Schmidt konnte in früheren Studien auch bereits einen Zusammenhang zwischen der Brachycephalie des CKCS und der bei dieser Rasse häufig auftretenden Chiari-ähnlichen Malformation beobachten (s. Kasten).

### Chiari-ähnliche Malformation

Eine Chiari-ähnliche Malformation ist eine angeborene Missbildung des Hinterkopfs, die den Hirnstamm einengen und den Abfluss der Gehirn-Rückenmark-Flüssigkeit (Liquor cerebrospinalis) stören kann. Durch den Stau der Gehirn-Rückenmark-Flüssigkeit kann sich eine Syringomyelie bilden. Darunter versteht man eine mit Liquor cerebrospinalis gefüllte Höhle im Rückenmark (Syrinx), die das Nervengewebe quetschen und damit Schädigen kann. Tiere mit einer Syringomyelie können unter starkem Juckreiz und Schmerzen im Hals- und Schulterbereich leiden. Bewegungsstörungen und Lähmungen können im Verlauf der Erkrankung hinzukommen. Die Chiari-ähnliche Malformation kann bei vielen Rassen auftreten, Cavalier King Charles Spaniel (CKCS) sind jedoch gehäuft davon betroffen.

### Der Schädel als Puzzle

Doch wie entsteht die extreme Kurzköpfigkeit überhaupt? Nach der Geburt ist der Schädel nicht vollständig verknöchert. Er besteht vielmehr aus verschiedenen Knochenplatten bzw. Knochenblöcken, die wie Puzzleteile zueinanderpassen und über bandhaftes Binde- oder Knorpelgewebe ver-



- a) 3D-Rekonstruktion eines Hundeschädels aus CT-Daten. Der rote Pfeil kennzeichnet eine Wachstumsfuge zwischen Stirn- und Scheitelbein.
- b) 2D-CT-Schnittbild aus der Kopfmedianen (Mittelachse). Neben der Wachstumsfuge zwischen Stirn- und Scheitelbein (roter Pfeil), werden nun auch Wachstumsfugen in der Schädelbasis sichtbar (grüne Pfeile).
- c) Histologisches Schnittbild aus einer Wachstumsfuge der Schädelbasis (grünes Rechteck in b, Synchronchondrosis intersphenoidalis), Safranin-O-Färbung. Zwischen bereits verknöcherten Schädelbasiskomponenten (rechts und links im Bild) ist noch Knorpelmasse eingeschoben und zeigt eine typische Gliederung in verschiedene Zonen. Solche Aufnahmen eignen sich zur morphologischen und morphometrischen Analyse der Wachstumsfugen.
- d) Ausschnitt aus der Verknöcherungszone (blaues Rechteck in c), Hämatoxylin-Eosin-Färbung. In stärkeren Vergrößerungen werden zelluläre Details der Wachstumszonen deutlich und können bewertet werden. Für die Umwandlung von Fugen-Knorpel in Knochen in der sog. Verknöcherungszone muss u.a. die Aktivität vielkerniger, knorpelabbauender Zellen (Chondroklasten, Pfeile) räumlich und zeitlich koordiniert werden.

bunden sind. Die Verbindungen stellen sogenannte Wachstumsfugen dar. Breite Wachstumsfugen auf dem Schädeldach sind bei menschlichen Säuglingen auch als Fontanellen bekannt. Die Wachstumsfugen erlauben das weitere schnelle Schädelwachstum in den Monaten nach Geburt. Dabei wachsen die Knochenplatten und Knochen-

blöcke jeweils in bestimmte Richtungen. Damit es kein Riesendurcheinander gibt, ist das Wachstum der einzelnen Knochenplatten aufeinander abgestimmt. An der Koordination des Schädelwachstums und der Verknöcherung der Wachstumsfugen sind verschiedene zelluläre Botenstoffe beteiligt. Wie die einzelnen Faktoren jedoch

genau ineinandergreifen und welche Prozesse auf der Ebene der Zellen stattfinden, ist noch nicht im Detail bekannt.

Vom Menschen weiß man, dass die verfrühte Verknöcherung von Wachstumsfugen eine Brachycephalie verursachen kann. Auch beim brachycephalen Hund kommt es zu einer verfrühten Verknöcherung der Schädelbasisfugen. Beim CKCS verknöchern die Schädelbasisfugen sogar vier Monate früher als bei Hunden mit mittellanger Schädelform.

Allerdings fehlen beim Hund bislang Untersuchungen zur Koordination des Schädelwachstums sowie zu den Entstehungsmechanismen der Brachycephalie. Mit ihrem Forschungsprojekt möchten Martin Schmidt und Carsten Staszuk an der Justus-Liebig-Universität Gießen einige der offenen Fragen beantworten.

## Schädelformen im Vergleich

Die Forscher möchten die Entwicklung der unterschiedlichen Schädelformen von Hunden in einem Alter von bis zu einem Jahr beobachten und vergleichen. Hierzu fertigen sie einerseits computertomografische und magnetresonanztomografische Aufnahmen der Schädel in verschiedenen Entwicklungsstufen an, andererseits werden Proben der Schädelknochen histomorphologisch und immunhistochemisch untersucht.

Im Rahmen der histomorphologischen Untersuchungen werden verschiedene Wachstumsfugen unter dem Mikroskop betrachtet, um gewebliche und zelluläre Strukturen quantitativ und räumlich morphometrisch zu analysieren. Bei einer immunhistochemischen Untersuchung werden ganz bestimmte Eiweiße (wachstumsrelevante, körpereigene

Botenstoffe und Substanzen) mithilfe von speziellen Antikörpern im Gewebe durch eine selektive Färbung sichtbar gemacht.

Da dies mit lebenden Hunden unmöglich ist, wird die Studie mit verstorbenen Jung-hunden durchgeführt. Alle Tiere sind dabei aus anderen Gründen gestorben oder eingeschläfert worden – kein einziger Hund wird für diese Studie getötet. Geplant sind Untersuchungen von 15 Hunden mit mesozephaler („normaler“ oder „mittellanger“) Schädelform, 15 anderen Brachycephalen als CKCS und zusätzlich speziell 10 CKCS.

## Spezielle Untersuchungen der Proben

Die Forscher entnehmen jeweils mehrere Proben aus den verschiedenen Wachstumsfugen der Schädelbasis und der Schädeldecke. Ein Teil dieser Präparate dient zunächst der Morphometrie, d. h. der Vermessung der unterschiedlichen Gewebsformen in den Wachstumsfugen. So kann beispielsweise festgestellt werden, wie hoch die Anteile an Knorpel, Bindegewebe und Knochen in einer bestimmten Wachstumsfuge in einem bestimmten Alter bei einer Hunderasse sind. Ein anderer Teil der Proben wird genutzt, um mithilfe einer sogenannten von Kossa Färbung, Kalziumablagerungen in den Wachstumsfugen quantitativ zu analysieren. Dadurch wird es möglich, Unterschiede im zeitlichen Verlauf der Schädelreifung zwischen einzelnen Hunden zu erfassen.

Für weitere mikroskopische Untersuchungen fertigen die Wissenschaftler von jeder Probe zunächst drei unterschiedlich gefärbte Präparate an. Mit jeder Färbung werden Details sichtbar gemacht, die bei einer anderen Färbung unsichtbar blieben:

- **Hämatoxylin-Eosin (HE) Färbung:** Mithilfe der HE-Färbung lässt sich eine gute Übersicht über das Gewebe gewinnen.
- **Safranin-O-Färbung:** Diese Färbung dient dem Nachweis von Knorpel, weil sie knorpeltypische Zuckermoleküle (Glykosaminoglykane) im Präparat hervorhebt.
- **Alkalische-Phosphatase-Färbung:** Wenn die knochenbildenden Zellen (Osteoblasten) aktiv sind, setzen sie das Enzym Alkalische Phosphatase frei. Die Alkalische Phosphatase ist an der Einlagerung von Mineralstoffen in das Knorpelgewebe (Mineralisation) und damit an der Verknöcherung beteiligt. Mithilfe der Alkalische-Phosphatase-Färbung kann man Mineralisationsprozesse im Präparat auffinden und die Potenz einzelner Zellen zur Ossifikation (Verknöcherung) abschätzen.

In weiteren immunhistochemischen Untersuchungen werden Typ X Kollagen und das Antigen KI-67 gesucht. Typ X Kollagen wird von vergrößerten Knorpelzellen, in der sogenannten Blasenknorpelzone gebildet. In dieser Zone findet die Vorbereitung zur Verknöcherung in der anschließenden Verknöcherungszone statt. Wo Typ X Kollagen anzutreffen ist, kann man also mit einer baldigen Verknöcherung rechnen. Das Antigen KI-67 wird dagegen in Zellen angetroffen, die sich in Teilung befinden – es zeigt also Gewebe an, das noch wächst.

## Ziele des Projekts

Die Ergebnisse aller Untersuchungen werden miteinander verglichen, um ein möglichst vollständiges Bild über die Vorgänge bei der Schädelentwicklung von Hunden zu gewinnen.

Mit histologischen / immunhistologischen Methoden können zelluläre und gewebliche Ereignisse zwar sehr detailliert untersucht werden, allerdings können immer nur kleine Ausschnitte aus dem Gesamtschädel unter dem Mikroskop betrachtet werden. Deshalb werden zusätzlich CT- und MRT-Aufnahmen angefertigt und mit den anderen Untersuchungen kombiniert. So kann die chronologische Abfolge des Wachstumsfugenschlusses bei den verschiedenen Schädelformen bestimmt werden. Ziel ist es, eine zeitliche Einordnung und Abfolge der Verknöcherung der Wachstumszonen des Hirnschädels bei Rassen mit mittellangem Schädel, anderen Brachycephalen und CKCS zu dokumentieren. Die histomorphologischen und immunhistochemischen Daten sollen darüber hinaus einen Beitrag zur Aufklärung der regulatorischen Mechanismen beim Wachstum des Hundeschädels liefern.

*Barbara Welsch*

## Titel der Studie:

**Histomorphologische Untersuchung von Synchronrosen und Suturen des Hundeschädels**

### Kontakt

PD Dr. med.vet. (habil) Martin Schmidt  
Klinik für Kleintiere-Chirurgie  
Frankfurter Str. 108, 35392 Giessen  
Martin.J.Schmidt@vetmed.uni-giessen.de  
Prof. Dr. Carsten Staszky  
Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie, und -Embryologie  
Frankfurter Str. 98, 35392 Giessen  
Carsten.Staszky@vetmed.uni-giessen.de