

Aus der Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie der Freien Universität Berlin (Leiter: Prof. Dr. med. W. SCHWARZ)

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Intercellularsubstanz der menschlichen Aortenklappen

Von

ADALBERT JAHNKE

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. Juni 1956)

Einleitung

Den Herzklappen kommt insofern eine besondere Bedeutung im Gesamtgefüge des Organismus zu, als von ihrer uneingeschränkten Leistungsfähigkeit seine Kardinalfunktionen direkt oder indirekt abhängig sind. Beweglichkeit, Schlußfähigkeit und Resistenz der Klappen hängen jedoch entscheidend von der Beschaffenheit ihrer Intercellularsubstanz ab. Deshalb steht die Betrachtung der bindegewebigen Anteile der Herzklappen im Vordergrund funktioneller und morphologischer Untersuchungen. Die bisher mit lichtmikroskopischen Methoden gewonnenen Erkenntnisse über den Aufbau dieser Klappen ergaben ein im wesentlichen aus kollagenen Fasern bestehendes Grundgerüst ihres bindegewebigen Stromas, das von nur wenigen elastischen Elementen durchsetzt ist^{15, 27}. Die funktionelle Betrachtungsweise der Histologie läßt zwar Aussagen über die mechanisch bedingte Vorzugsrichtung des Verlaufes dieser Kollagenfasern zu, nicht aber über ihre Feinstruktur und Beschaffenheit.

Die Feinstruktur der Fasern des Bindegewebes entzieht sich der lichtmikroskopischen Sichtbarkeit. Sie war einer der Schwerpunkte elektronenmikroskopischer Untersuchungen in den vergangenen Jahren. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind als Grundlage für die Beurteilung der Intercellularsubstanz der Herzklappen von Bedeutung. Sie seien deshalb an dieser Stelle kurz angeführt.

Eine Bindegewebsfaser besteht aus periodisch quergestreiften Fibrillen und einer diese Fibrillen im Faserverband zusammenhaltenden Kittsubstanz^{40, 30, 14, 39}. Diesen Aufbau aus 2 Komponenten zeigt sowohl die reife Sehnenfaser²⁸, als auch die argyrophile Faser^{17, 18}. Mit Hilfe der Bindegewebsversilberung nach GÖMÖRI¹² war es möglich, auch im Elektronenmikroskop die verschiedenen Bindegewebsfasern voneinander abzugrenzen¹⁰. Wie weitgehend diese Versilberungsmethode die Unterschiede der einzelnen Faserarten zur Darstellung bringt, zeigte die Untersuchung der Entwicklung von Sklera^{32, 33} und Sehne²⁸. Während

embryonale Fibrillen die Silber- (bzw. Gold-) Partikel²² unregelmäßig an ihrer Oberfläche anlagern (unperiodische Außenversilberung), zeigt sich im Laufe der Entwicklung eine zunehmende Tendenz zur regelmäßigen Anlagerung der Schwermetallpartikel an ihrer Oberfläche im Bereiche der D-Teile (periodische Außenversilberung). Diesem, als Präkollagen zu bezeichnenden Status der Intercellularsubstanz entsprechen auch die bisher untersuchten Gitterfasertypen^{3, 2, 4, 5}. Bei einer Weiterdifferenzierung des Bindegewebes tritt eine prinzipielle Änderung dieses Versilberungsmodus ein. Beim ausgereiften Kollagen werden die Schwermetallgranula nicht mehr an der Oberfläche der Fibrillen, sondern im Inneren ihrer D-Teile gefunden, wodurch die „genuine“ Querstreifung der Fibrillen dieses Bindegewebstypes noch hervorgehoben wird. Ein solcher Befund (periodische Innenversilberung) ist kennzeichnend für reifes Kollagen³⁵. Auch die mit dem Alter zunehmende Dicke der Fibrillen und die Abnahme der Kittsubstanz wird als Kriterium für die Beurteilung einer Faserdifferenzierung herangezogen.

Diese elektronenmikroskopischen Ergebnisse lassen eine außerordentlich feine Beurteilung der Beschaffenheit von Bindegewebsfasern zu, die weit über das lichtmikroskopisch erreichbare Maß hinausgeht. Die Fasern lassen sich, je nach ihrem Differenzierungsgrad, in die verschiedensten Stadien einteilen, angefangen von der eben angelegten embryonalen Faser über einige argyophile bzw. präkollagene Stadien bis zum Stadium des ausdifferenzierten, reifen Kollagens.

Der Ausfall der Silberreaktion scheint nach den Befunden von IRVING und TOMLIN¹⁹ u. a. von Verteilung und Beschaffenheit der Kohlenhydrate innerhalb der Fasern abzuhängen; ein Befund, der durch eine zweite Silberreaktion — der Versilberung nach Perjodsäurebehandlung (DETTMER und SCHWARZ¹¹) — erhärtet wird. Wenn man auch auf Grund der bisherigen elektronenmikroskopischen Ergebnisse sagen kann, daß die Kohlenhydrate die Fibrillenbildung- und -differenzierung beeinflussen —, wie der Ausfall der Versilberungsreaktionen gezeigt hat —, so haben wir doch bis heute nur wenige Hinweise darauf, durch welche Faktoren die Kohlenhydratkomponente der Intercellularsubstanz in ihrer Beschaffenheit und in ihrer Lage in- oder außerhalb der Fibrillen beeinflußt bzw. gesteuert wird. Der bisher bedeutendste Hinweis auf einen differenzierungshemmenden Faktor hat sich aus der elektronenmikroskopischen Untersuchung bradytrophen Gewebes ergeben, also solchen Gewebes, das histologisch durch das Fehlen von Capillaren ausgezeichnet ist. Die Intercellularsubstanz eines solchen Gewebes (Cornea^{32, 33}, Knorpel³⁷, Trommelfell²⁵, Media der Aorta^{34, 36}) zeigt extrem dünne Fibrillen mit unperiodischer Außenversilberung und eine reichliche Menge Kittsubstanz, bei deren chemischer Zusammensetzung die Kohlenhydrate im Vordergrund stehen. Ein solcher Status

entspricht dem embryonalen Gewebe. Dieser Zustand bleibt während des gesamten Lebens erhalten. Man könnte annehmen, daß hier durch die fehlende Capillarisierung und eine damit verbundene mangelhafte Sauerstoffdiffusion durch das Gewebe hindurch die Zellen des Bindegewebes in ihrer Leistung beeinflußt werden. Diese Annahme wird durch die Befunde von ALTHULER und ANGEVINE¹ gestützt, nach denen die Bindegewebszellen auf Sauerstoffmangel mit einer vermehrten Produktion von Kohlenhydraten reagieren. Die Anreicherung von Kohlenhydraten in der Intercellularsubstanz scheint also ihre Weiterdifferenzierung in Richtung auf reifes Kollagen hin zu verhindern.

Die fehlende Capillarisierung der normalen Aortenklappen ist nach den histologischen Befunden wohl als gesichert anzusehen^{16, 9, 6, 7, 29, 8, 33}). Es handelt sich also auch hierbei um bradytrophes Gewebe im histologischen Sinne. Allerdings nehmen die Aortenklappen insofern eine Sonderstellung innerhalb der bradytropfen Gewebe ein, als an ihrer Oberfläche — im Gegensatz zu allen anderen entsprechenden Geweben des Organismus — die höchstmögliche O₂-Spannung vorhanden ist, nämlich die des frisch arterialisierten Blutes, von dem sie umspült werden. Da man annehmen kann, daß das Endothel dem Gasaustausch keinen nennenswerten Widerstand entgegensetzt, muß eine bessere Sauerstoffversorgung der Aortenklappen als die anderer bradytropher Gewebe gegeben sein. Wenn also die relative Sauerstoffspannung einen Einfluß auf die Differenzierung der Intercellularsubstanz haben soll, dann müßte man aus den angeführten Gründen erwarten, daß der Status der Intercellularsubstanz der Aortenklappen sich von dem anderer bradytropher Gewebe unterscheidet.

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung der Aortenklappen ergeben sich also folgende Fragestellungen:

1. Welchen Status weist ihre Intercellularsubstanz auf, wobei man die Kriterien der Fibrillendicke, des Versilberungsmodus und der relativen Menge und Beschaffenheit der Kittsubstanz zugrunde legen muß.
2. Welchem Entwicklungsstadium von Bindegewebsfasern ist dieser Status zuzuordnen; dabei wird speziell die Frage zu entscheiden sein, ob wir es hier mit ausdifferenzierten kollagenen Fasern zu tun haben, wie es die bisherigen lichtmikroskopischen Befunde nahelegen, oder ob die Bindegewebsfasern der Aortenklappen — entgegen ihrem lichtmikroskopischen Erscheinungsbild — dem undifferenzierten Status der Fasern des bradytropfen Gewebes entsprechen.

Eine Klärung dieser Fragen wird über den relativen Sauerstoffmangel als einen die Differenzierung bradytropher Gewebe hemmenden Faktor einen gewissen Aufschluß geben können.

3. Wird die Frage zu klären sein, ob die Intercellularsubstanz der Aortenklappen im Laufe des Lebens ihren Status beibehält, oder ob sie einem Differenzierungsprozeß unterworfen ist, wie wir ihn von der Sehne²⁸, der Sklera^{32, 33}, der Haut²⁴ und anderen Bindegewebsstrukturen kennen. In diesem Zusammenhang wird auch die Frage nach eventuellen Altersveränderungen der Aortenklappen zu beantworten sein.

Von einer Klärung dieser Fragen wird in gewissem Sinne abhängen, in welcher Richtung und in welchem Ausmaße pathologische Veränderungen am Bindegewebe der Aortenklappen zu erwarten sind. Eine Frage, auf die ich im Verlaufe der vorliegenden Untersuchungen noch zurückkommen möchte.

Material und Methoden

Es wurden die Aortenklappen zweier Neugeborener und eines 1jährigen, sowie einer Reihe herzgesunder Erwachsener im Alter von 25—81 Jahren untersucht. Aus den Klappen der Neugeborenen wurde der Nodus und ein Stück des Taschenteiles entnommen, während aus allen anderen Klappen Nodus, Taschenteil, freier Rand und Basis herauspräpariert wurden, um die einzelnen Klappenteile getrennt voneinander untersuchen zu können. Außerdem wurden die entsprechenden Klappenteile einer frischen Endocarditis verrucosa (56 Jahre) und einer Aortenstenose (Folge von Endokarditiden, 68 Jahre) entnommen.

Das Material wurde in Formol fixiert, gefriergeschnitten und anschließend 10 min in einem Siemens-Beschallungsgerät (nach WOLF) mit hochfrequentem Schall zerzupft. Das so vorbehandelte Material wurde teils ohne weitere Behandlung mikroskopiert, teils nach der Bindegewebsversilberungsmethode nach GÖMÖRI und der Perjodsäure-Silbertetraminmethode nach DETTMER und SCHWARZ versilbert. Ein Teil der Präparate wurde nach der Auftrocknung auf elektronenmikroskopische Objektblenden mit Palladium im Winkel von 30° bedampft.

Sämtliche Aufnahmen wurden in einem Zeiss-Elektronenmikroskop Typ EM 8/II bei einer Strahlspannung von 40 kV aufgenommen.

Befunde

Um die Beschaffenheit der *Fibrillen* der Aortenklappen beurteilen zu können, habe ich zunächst an formolfixierten, nicht bedampften Präparaten die Fibrillendicken bestimmt, und zwar für die einzelnen Abschnitte der Klappen getrennt. Die Ergebnisse sind für die verschiedenen Altersstufen aus der Verteilungskurve der Fibrillendicken (Abb. 1) zu ersehen. Aus dieser Kurve geht hervor, daß die *Schwankungsbreite* der Fibrillendicken in allen untersuchten Abschnitten der Aortenklappen praktisch gleich bleibt. Sie beträgt im Mittel 20—25 m μ .

Weiterhin sind kaum Unterschiede in den *Mittelwerten* der Fibrillendicken in den einzelnen Klappenabschnitten festzustellen. Eine Ausnahme bildet allenfalls der Nodusus des Neugeborenen und des 1jährigen, bei denen die Mittelwerte etwas höher liegen und deren Kurven auch

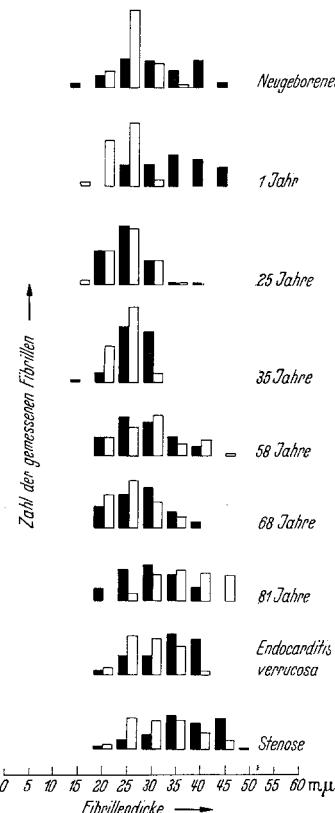


Abb. 1. Verteilungskurve der Fibrillendicken der Intercellularsubstanz der menschlichen Aortenklappen.
(Umrundet = Taschenteil,
ausgezogen = Nodusus)

eine etwas größere Schwankungsbreite aufweisen. Sowohl die Mittelwerte der Fibrillendicken, als auch die Schwankungsbreite der Kurven bleibt während des gesamten Lebens bis ins hohe Alter hinein praktisch unverändert. Die aus der Kurve ersichtlichen mittleren Fibrillendicken liegen zwischen 20 und 30 m μ . Wenn man diesen Befund zu den bereits bekannten feinanalytischen Ergebnissen am Bindegewebe in Beziehung setzt, läßt sich dies Verhalten nur mit dem des bradytropfen Gewebes vergleichen. Nach den Fibrillendicken zu urteilen unterliegt die Intercellularsubstanz der Aortenklappen keinem nennenswerten Differenzierungsprozeß, sondern bleibt zeitlebens auf einer relativ frühen Entwicklungsstufe stehen. Auch zwischen den einzelnen Klappenteilen ist kein Unterschied feststellbar.

Nach den Arbeiten von SCHWARZ³⁵ und LINDNER²³ ist aber die Fibrillendicke *allein* kein sicheres Kriterium dafür, ob eine Intercellularsubstanz sich in Richtung auf Kollagen differenziert hat oder nicht. Wie bereits einleitend erwähnt, gestattet — unabhängig von der Fibrillendicke — der Versilberungsmodus der Fibrillen bei Anwendung

der Bindegewebesversilberungsmethode nach GÖMÖRI eine Zuordnung zu den verschiedenen Differenzierungsstufen der Intercellularsubstanz (embryonal, argyrophil, präkollagen, kollagen). Die Anwendung dieser Methode an den Aortenklappen ergibt folgendes Resultat: man findet niemals periodisch innenversilberte Fibrillen, wie sie für ausdifferenziertes, reifes Kollagen kennzeichnend wären. Es ist dabei gleichgültig, um welchen Klappenteil und um welches Lebensalter es sich handelt. Obwohl man kein reifes Kollagen feststellen kann, lassen sich mit Hilfe dieser Methode doch Unterschiede zwischen den einzelnen Abschnitten

einer Klappe nachweisen, die bei der Auswertung der Verteilungskurve der Fibrillendicken allein nicht zu erfassen sind. Die Abb. 2 zeigt die Aufsplitterung einer Faser aus dem Taschenteil der Aortenklappe eines Neugeborenen in dünne Einzelfibrillen, an deren Oberfläche

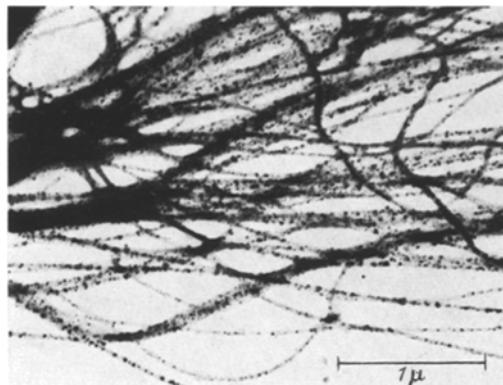


Abb. 2. Taschenteil, Neugeborenes. Versilberung nach GÖMÖRI. 20000:1

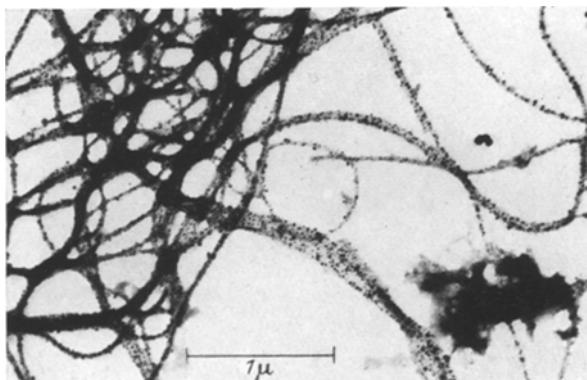


Abb. 3. Nodulusteil, Neugeborenes, Versilberung nach GÖMÖRI. 20000:1

Silbergranula unregelmäßig abgelagert sind. Der Versilberungsmodus, der hier in Erscheinung tritt, entspricht etwa dem von Corneafibrillen. Wenn man diese Fibrillen mit Nodulusfibrillen vergleicht (Abb. 3), dann fällt auf, daß diese sich nicht nur stärker versilbern, sondern auch weniger starr auftrocknen, als die Fibrillen des Taschenteiles. Auch sind die Konturen bei den Nodulusfibrillen verwischter und neben ihnen erkennt man größere Kittsubstanzplaques, die Silbereinlagerungen enthalten. Ähnlich verhalten sich die Fibrillen aus dem freien Rand und aus der Basis desselben Falles.

Das versilberte Präparat aus dem Taschenteil der Aortenklappe eines 35jährigen (Abb. 4) zeigt ebenfalls eine unperiodische Außenversilberung der Fibrillen; nur an manchen Stellen ist eine schwache

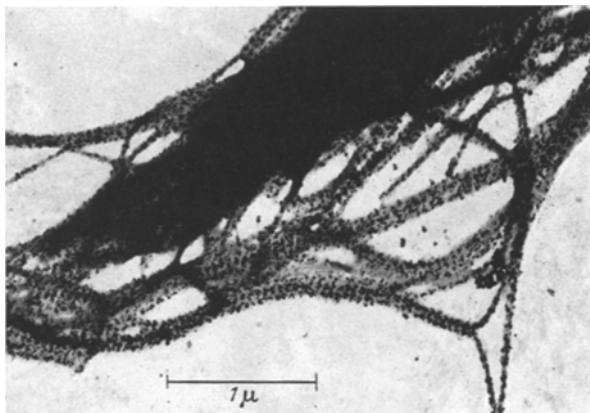


Abb. 4. Taschenteil, 35 Jahre. Versilberung nach GÖMÖRI; an manchen Stellen angedeutete periodische Außenversilberung. 20 000:1



Abb. 5. Taschenteil, 81 Jahre. Versilberung nach GÖMÖRI. 20 000:1

Anlagerung der Silberteilchen an die D-Teile der Fibrillen zu erkennen (periodische Außenversilberung). Man könnte hier sagen, daß dies ein Ausdruck für die Weiterdifferenzierung der Intercellularsubstanz in Richtung auf reifes Kollagen hin sei, obwohl diese Tendenz nur andeutungsweise vorhanden ist. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Klappenteilen, wie wir sie beim Neugeborenen und beim 1jährigen gefunden haben, sind hier nicht mehr zu konstatieren.

Der beim 35jährigen festgestellte Status der Intercellularsubstanz der Aortenklappen bleibt während des weiteren Lebens erhalten. Erst im Greisenalter (81 Jahre) findet man eine gewisse Periodizität der Außenversilberung, die aber nur wenig über das Maß dessen hinausgeht, was auch im mittleren Lebensalter gefunden wird (Abb. 5). Die Tatsache also, daß die Aortenklappen eines alten Menschen derber und fester sind, als Klappen aus jungen Lebensaltern, dürfte kaum auf eine Kollagenisierung ihrer Intercellularsubstanz zurückgeführt werden können.

Wie die Bindegewebsversilberung nach Gömöri, zeigt auch die Anwendung der Perjodsäure-Silbertetramminmethode, daß während des Lebens keine nennenswerten Veränderungen an den Fibrillen der Aortenklappen vor sich gehen, d. h., daß eine Differenzierung zum Kollagen hin ausbleibt.

Wenn auch an den Fibrillen keine bemerkenswerten Veränderungen festzustellen sind, so könnte doch Menge und Beschaffenheit der zwischen den Fibrillen und Fasern liegenden Kittsubstanz sich mit dem Alter ändern. Diese Kittsubstanz läßt sich am besten an Präparaten beurteilen, die nach der Auf trocknung der in der elektronenmikroskopischen Technik üblichen Schrägbedämpfung mit Schwermetallen unterzogen wurden. In solchen Präparaten kann man das Mengenverhältnis der Kittsubstanz zu den Fibrillen und in gewisser Hinsicht auch die Affinität der beiden Komponenten zueinander beurteilen. Man kann annehmen, daß die Affinität der Kittsubstanz zu den Fibrillen um so größer ist, je mehr Kittsubstanz wir bei gleicher Beschallungsdauer verschiedener Präparate an den Fibrillen finden. Auch die Beschaffenheit der Kittsubstanz — ob fein- oder grobgranulär — ist im schrägbedämpften Präparat am besten zu beurteilen. Hierbei wird besonders darauf zu achten sein, ob und in welchem Umfange Filamente in ihr auftreten, die man als Fibrillenvorstufen ansehen kann.

Die Abb. 6 zeigt das Bedampfungsbild der Intercellularsubstanz der Aortenkappen eines Neugeborenen, getrennt in Nodus- und Taschen teil. Bei beiden Präparaten fällt die relativ große Menge an Kittsubstanz auf, deren Hauptteil einen Mantel um die einzelnen Fibrillen herum bildet, bzw. die Fibrillen zu Fasern verkittet. Die Affinität der Kittsubstanz zu den Fibrillen scheint in diesem Falle also relativ groß zu sein. Neben diesen gemeinsamen Merkmalen der Neugeborenen klappenteile läßt sich aber doch ein gewisser Unterschied im Verhalten der Kittsubstanz beider Präparate beobachten. Der Nodus zeigt fast völlig maskierte Fibrillen, deren Querstreifung nur an wenigen Stellen andeutungsweise zu erkennen ist. Wo die Kittsubstanz zwischen den Fibrillen aufgetrocknet ist, läßt sie keine Tendenz zur Filamentbildung erkennen. Sie trocknet vielmehr membranartig oder in Plaques auf. Der Taschenteil zeigt dagegen Fibrillen, deren Querstreifungsperioden

an den meisten Stellen zu erkennen sind und deren Kittsubstanzmantel sehr viel geringer ist, als der von Nodulusfibrillen. Die Kittsubstanz scheint hier aus kleinen Granula zu bestehen, die zum Teil einzeln aufzrocknen, zum Teil in Aggregationen, die an Filamente erinnern. Auf diesen Unterschied in der Dicke des Kittsubstanzmantels dürften die Differenzen zurückzuführen sein, die ich an Hand der Verteilungskurve der Fibrillendicken (Abb. 1) dargestellt habe. Die von der Norm ab-

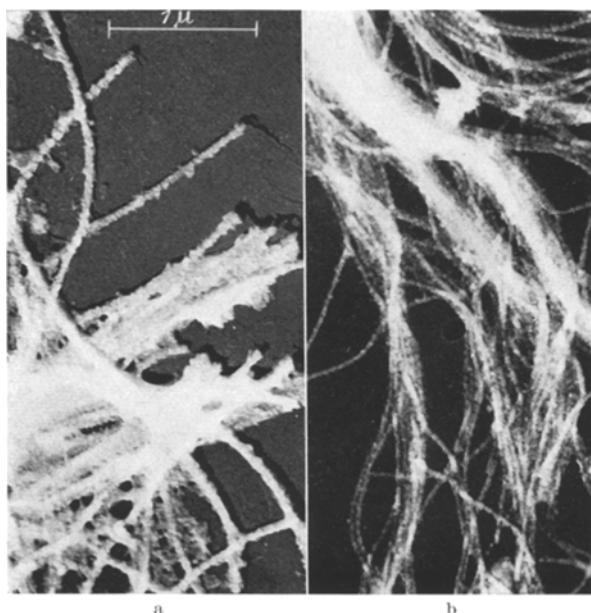


Abb. 6 a u. b. Aortenklappe, Neugeborenes, mit Palladium schräg bedampft.
a Nodulusteil, b Taschenteil. 20 000:1

weichende Fibrillendicke des Nodulusteiles beim Neugeborenen dürfte dadurch erklärt werden, daß der in diesem Abschnitt dickere Kittsubstanzmantel bei der Ausmessung eine größere Dicke der Fibrillen vortäuscht, als tatsächlich vorhanden ist.

Bei den Präparaten eines 1jährigen hat sich die Beschaffenheit der Kittsubstanz geändert (Abb. 7). Im Nodulusteil ist sie im wesentlichen in rundlichen, flachen Plaques frei aufgetrocknet. Ganz selten sieht man ein langes, dünnes Filament ohne erkennbare Querstreifung. Der Kittsubstanzmantel um die einzelnen Fibrillen herum ist sehr dünn, bzw. überhaupt verschwunden. Der Taschenteil läßt eine filamentäre Kittsubstanz erkennen. Die Filamente haben eine Dicke von 5—10 $m\mu$ und zeigen an manchen Stellen periodische Verdickungen, deren Abstände etwa einer Kollagenperiode entsprechen (650 Å). Neben diesen

Filamenten findet man kleine Ansammlungen feiner Granula, die zwischen den Fibrillen und Filamenten aufgetrocknet sind. Das Präparat des freien Randes und der Basis der gleichen Klappen zeigt ein Verhalten, das etwa eine Mittelstellung zwischen Nodulus- und Taschenteil einnimmt.

Während man in den bisher beschriebenen Altersstufen noch Unterschiede zwischen den einzelnen Klappenabschnitten erkennt, verwischen

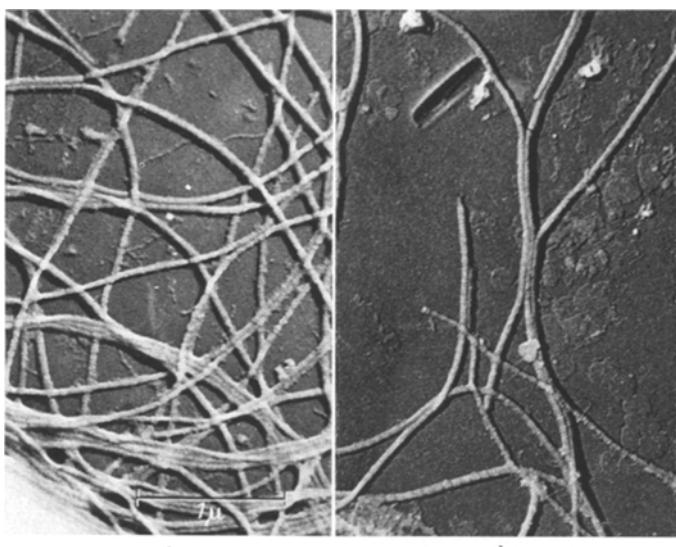


Abb. 7 a u. b. Aortenklappe, 1 Jahr, mit Palladium schräg bedampft. 20 000:1. a Taschen teil, Kittsubstanz mit Filamenten; b Nodulusteil, Kittsubstanz in Plaques

sich diese Unterschiede im mittleren Lebensalter. Abb. 8 zeigt Nodulus- und Taschenteil der Aortenklappen eines 35jährigen. In beiden Präparaten sieht man Fibrillen, deren hochunterteilt periodische Querstreifung deutlich zu erkennen ist. Im Gegensatz zu kollagenem Gewebe findet man in diesen Präparaten aber auch zahlreiche Kittsubstanzpartikel, die zum großen Teil in Form kurzer Filamente mit angedeuteter Periode vorliegen, z. T. aber auch in größeren Plaques aufgetrocknet sind, die aus vielen feinen Granula zusammengesetzt sind. Dieses Kittsubstanzbild ändert sich auch im hohen Lebensalter nicht grundlegend. Hier könnte man allenfalls sagen, daß die Fibrillen einen „angenagten“ Eindruck machen; eine Tatsache, die man auf die in diesem Alter geringe Affinität der Kittsubstanz zu den Fibrillen zurückführen kann. Das Aufzrocknungsbild der Kittsubstanz weist auch in diesem Alter noch Filamente auf (Abb. 9).

Wenn man die beschriebenen Befunde zusammennimmt, ergibt sich, daß die Intercellularsubstanz der Aortenklappen den gleichen Status

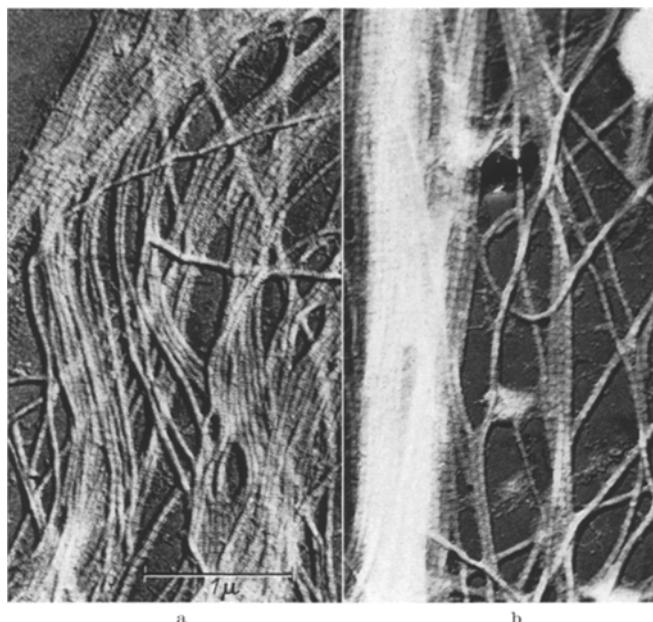


Abb. 8 a u. b. Aortenklappe, 35 Jahre, mit Palladium schräg bedampft. 20000:1.
a Nodulusteil, b Taschenteil, gleiches Verhalten der Kittsubstanz

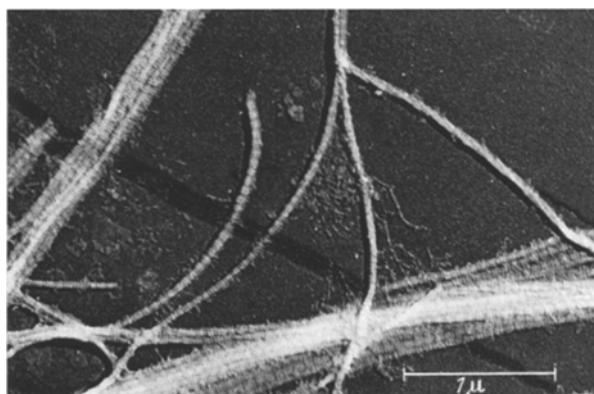


Abb. 9. Taschenteil, 81 Jahre, mit Palladium schräg bedampft. 20000:1. Beachte die Filamente und die gezackten Konturen der Fibrillen

aufweist und zeitlebens beibehält, den auch die anderen bradytrophischen Gewebe des Organismus besitzen. Reifes Kollagen — wie in einer Sehne oder in der Sklera — wird während des gesamten Lebens in

keinem Klappenabschnitt gefunden. Auch die Altersveränderungen der Klappen gehen nicht mit einer Kollagenisierung der Intercellularsubstanz einher; die Fibrillen zeigen keine nennenswerte Tendenz einer Differenzierung zum reifen Kollagen. Wohl aber findet man im Alter eine verminderte Affinität der Kittsubstanz zu den Fibrillen. Dieser Befund könnte die Altersveränderungen erklären, die schon makroskopisch an den Aortenklappen feststellbar sind und die ihren Ausdruck darin finden, daß die im jugendlichen Alter noch vorhandene Transparenz der Klappen verloren geht und statt dessen innerhalb der Klappe Faserzüge sichtbar werden. Damit wird der Eindruck eines Opakwerdens der älteren Klappe hervorgerufen. Während im jugendlichen Alter die Affinität der Kittsubstanz zu den Fibrillen so groß ist, daß die *Homogenität* des bindegewebigen Stromas der Aortenklappe gewahrt bleibt, reicht die Affinität im späteren Alter nicht mehr aus, um eine relativ gleichmäßige Verteilung der Fibrillen innerhalb der Intercellularsubstanz zu gewährleisten, so daß es durch die Schubkräfte des vorbeigleitenden Blutes zur Ausbildung ausgeprägter funktioneller Fasersysteme kommt, die man mit bloßem Auge wahrnehmen kann. Es liegt auf der Hand, daß sich zwischen diesen Fasersystemen dann Orte minderer Resistenz bilden.

Befunde an durch Endokarditis veränderten Aortenklappen

Die Gewebe, die während des gesamten Lebens unter normalen Bedingungen einen gewissen embryonalen Status ihrer Zwischensubstanz beibehalten, können unter pathologischen Bedingungen, soweit das bisher untersucht worden ist, eine Tendenz zur Weiterdifferenzierung ihrer Intercellularsubstanz in Richtung auf reifes Kollagen hin zeigen. Dies kommt besonders in den Befunden an der Cornea^{32, 33} zum Ausdruck. Nur unter pathologischen Bedingungen findet hier eine Kollagenisierung der Fibrillen statt. Es lag daher nahe, in die vorliegende Untersuchung der Zwischensubstanz der Aortenklappen auch einige pathologische Fälle einzubeziehen. Es ist nicht der Sinn der folgenden Ausführungen, die Feinstruktur der pathologischen Veränderungen bei Endokarditis und anderen Erkrankungen der Aortenklappen zu klären. Vielmehr war mir nur daran gelegen, festzustellen, ob sich bei gewissen Stadien der Endokarditis eine Differenzierungstendenz ihrer Intercellularsubstanz zum Kollagen hin nachweisen läßt oder nicht.

Bei einem Fall von florider Endocarditis verrucosa ergibt sich folgendes Bild: Der Versilberungsmodus der Fibrillen zeigt (Abb. 10) eine unperiodische Außenversilberung. Etliche Fibrillen sind „inkrustiert“, d. h. sie zeigen eine starke Anlagerung grober Silberpartikel, die zum Teil die Fibrillenkonturen völlig überlagern. Im ganzen gesehen ist die Versilberung in diesem Präparat — obwohl es im gleichen

Arbeitsgang, wie die vorher beschriebenen versilbert wurde — erheblich stärker, als die der nicht pathologisch veränderten Fälle. Die Fibrillen zeigen hier, wie auch im Bedampfungsbild, keine Abweichung vom normalen Verhalten. Die Kittsubstanz scheint etwas vermehrt zu sein, neigt bei der Auf trocknung zur Bildung kurzer, plumper Filamente

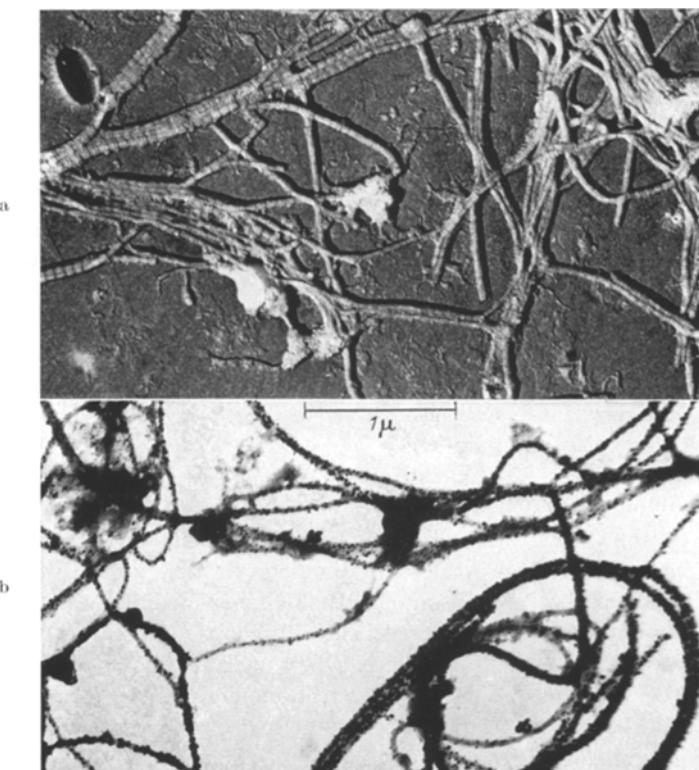


Abb. 10 a u. b. Endocarditis verrucosa, 56 Jahre. a Versilberung nach GÖMÖRI;
b mit Palladium schräg bedampft. 20000:1

ohne erkennbare Periodizität und macht einen vielgestaltigen Eindruck. Aus der Zusammenfassung dieser Befunde kann man folgern, daß die pathologische Veränderung dieses Endokarditisfalles sich in der Kittsubstanz abspielt, wobei man aus dem Versilberungsmodus und dem heterogenen Verhalten der Kittsubstanz im Bedampfungsbild schließen kann, daß in ihr eine Depolymerisation und eine Vermehrung der reduzierenden Gruppen stattgefunden hat. Von einer Fibrillendifferenzierung in Richtung auf Kollagen hin kann im vorliegenden Falle keine Rede sein. Ebensowenig kann von einer solchen Differenzierung bei einer Stenose der Aortenklappen gesprochen werden. Auch hier findet man

im wesentlichen Veränderungen des Versilberungsmodus durch die Bildung grober Silbergranulationen und ein völlig uneinheitliches Verhalten der Kittsubstanz im Bedämpfungsbild (Abb. 11). Die Fibrillenkonturen scheinen in diesem Falle an verschiedenen Stellen zu verschwinden, was auf besondere Kittsubstanzveränderungen hinweist. Neben der granulär zwischen den Fibrillen aufgetrockneten Kittsubstanz, in der man an manchen Stellen auch dünne Filamente mit angedeuteter

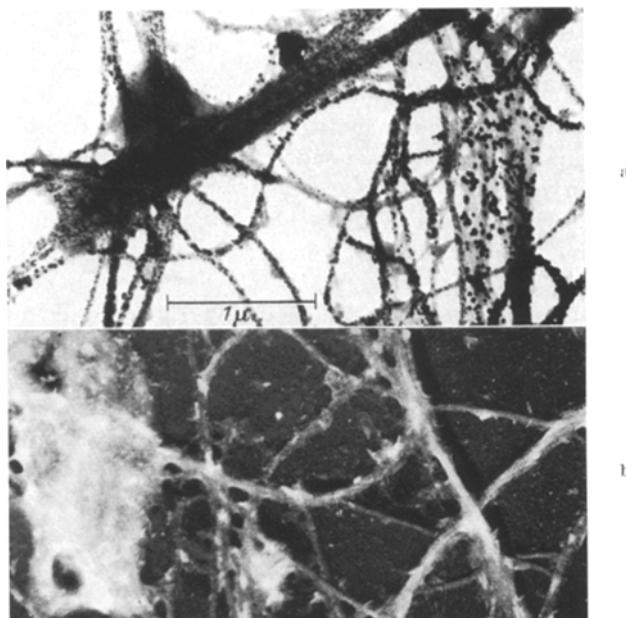


Abb. 11a u. b. Aortenklappenstenose, 68 Jahre. a Gomori-Versilberung; b Schrägbedämpfung mit Palladium; kleine Kalkpartikel in der Kittsubstanz. 20 000:1

Periodizität findet, sieht man Kalkpartikel, wie sie auch das makroskopische Verhalten der verhärteten Klappe schon vermuten ließ. Auch in den stenosierten Aortenklappen findet man keine Kollagenisierungstendenz der Fibrillen der Intercellularsubstanz im Sinne der oben gegebenen Definition des Kollagens. Vielmehr sind auch die Veränderungen in diesem Falle auf die Kittsubstanz beschränkt. Diese scheint auch hier wieder depolymerisiert zu sein und bietet ein mannigfaches Bild, das in den Einzelheiten heute zwar analytisch beschrieben, nicht aber vom Chemismus der ungeformten Substanzen her erklärt werden kann.

Diskussion

Wenn bei der Intercellularsubstanz der Aortenklappen *lichtmikroskopisch* der Befund erhoben wird, daß hier im wesentlichen kollagenes

Gewebe vorliegt, dann kann nach unseren Befunden dieses lichtoptische Bild nur durch das besondere Verhalten der Kittsubstanz erklärt werden. Wir müssen annehmen, daß im vorliegenden Falle der lichtoptische Eindruck kollagenen Gewebes — leuchtend roter Farbton nach Versilberung — dadurch hervorgerufen wird, daß die Silberkeime, die sich in der Intercellularsubstanz bilden, zwar relativ zahlreich sind, sich andererseits aber durch die hohe Dichte der Kittsubstanz nicht zu größeren Granula entwickeln können. Dasselbe lichtmikroskopische Bild also, das man bei *kollagenen* Fasern (Achillessehne²⁸, Haut²⁴, Sklera^{32, 33}, Aponeurose usw.) findet, bei denen Kornverteilung und Korngröße durch *intrafibrilläre* Faktoren beschränkt werden, haben wir bei der Intercellularsubstanz der Aortenklappen, nur, daß hier ähnliche Bedingungen durch die Beschaffenheit der *extrafibrillär* gelegenen *Kittsubstanz* hervorgerufen werden. In diesem Zusammenhang sind die Befunde von IRVING und TOMLIN¹⁹ interessant, nach denen der Versilberungsmodus überhaupt nur von der Kittsubstanz des entsprechenden Gewebes abhängig ist. Danach scheint es so, als ob auch beim reifen kollagenen Gewebe der Ausfall der Versilberung dadurch bedingt ist, daß die Fibrillen mit reaktiven Substanzen imprägniert sind, die eine *intrafibrilläre* Versilberung hervorrufen. Diese reaktiven Substanzen sind in der Intercellularsubstanz wahrscheinlich Polysaccharide. Wir wissen bis heute, daß der größte Teil der Polysaccharide in der Kittsubstanz des Bindegewebes zu suchen ist^{3, 2, 4, 5, 21, 20, 26}. Der Polysaccharidgehalt der Bindegewebs*fibrillen* ist schwierig zu analysieren (GRASSMANN¹³). Immerhin ist auch in den reifen Kollagenfibrillen ein gewisser Prozentsatz Polysaccharide, gebunden an das fibrilläre Skleroproteid, vorhanden (SCHNEIDER³¹). Inwieweit man überhaupt eine klare Trennung zwischen Fibrillen und Kittsubstanz in dieser Hinsicht durchführen kann, ist noch eine große Frage. Nach den neueren Vorstellungen muß man sich die Intercellularsubstanz als von den Zellen abgesonderte, beeinflußte und gesteuerte Substanz vorstellen, in der die Fibrillen lediglich morphologisch faßbare Gerüste darstellen, die von niedermolekularen Kittsubstanzanteilen durchflutet werden, was auch die Befunde von IRVING und TOMLIN erklären würde.

Im Falle der Aortenklappen werden die reaktiven Gruppen von den beiden Polysacchariden Chondroitinsulfat B und C gestellt. Wenn man den Versilberungsmodus der normalen Aortenklappen der verschiedenen Lebensalter betrachtet, so zeigt sich im elektronenmikroskopischen Bild eine gleichmäßige Verteilung feinster Silberkörner über das ganze Präparat, jeweils an den Orten, an denen sich Kittsubstanz befindet; d. h. im Kittsubstanzmantel der Fibrillen (unregelmäßige Außenversilberung in bezug auf die Fibrillenperiode) und in den frei aufgetrockneten Plaques der Kittsubstanz. Die Kleinheit der ab-

gelagerten Silbergranula ist auffallend und spricht für eine relativ *hohe Dichte* der Kittsubstanz. Dieses Bild ändert sich jedoch in pathologischen Fällen. Hier finden wir größere Silberpartikel und inkrustierte Fibrillen, was für eine Verringerung der Kittsubstanzdichte spricht. Diese Dichteverminderung kann auf eine Depolymerisation des Polysaccharidanteiles zurückgeführt werden. Denn neben einer Vergrößerung der einzelnen Granula findet man eine Vermehrung der Keimorte, d. h. mehr reaktive Gruppen, die nur durch Aufschlagung der Polysaccharide zustande gekommen sein können. An dieser Stelle erscheint es angebracht, auf das histologische Bild der pathologischen Veränderungen kurz Bezug zu nehmen. Nach BÖHMI²⁹ und KLEIN³⁰ (zitiert bei LINDNER³¹), findet man hier eine Re-Differenzierung der kollagenen Anteile der Aortenklappen zu argyrophilen Fasern. Diese Argyrophilie im histologischen Bild findet ihre Erklärung in den von mir beschriebenen Befunden. Die Vermehrung und Vergrößerung der Silbergranulationen bei einer Entzündung der Herzklappen ruft im lichtmikroskopischen Bild eine Violett- bis Schwarztönung der erkennbaren Faserzüge hervor, aus der man schließen könnte, daß hier eine Rückdifferenzierung kollagener Fasern zu präkollagenen Stadien stattgefunden hätte. Dies ist aber nicht der Fall. Die Fibrillen, als wesentlicher Faserbestandteil, bleiben in ihrer Morphologie erhalten. Lediglich die Depolymerisation der *Kittsubstanz* und damit ihr abweichendes physikalisch-chemisches (Dichte) und chemisches Verhalten (Zunahme der reaktiven Gruppen) täuscht eine Redifferenzierung des Faserverbandes *im lichtmikroskopischen Bild* vor. Abgesehen davon, daß eine Faser, deren Differenzierung zum reifen Kollagen während des gesamten Lebens elektronenmikroskopisch nicht festgestellt werden kann, sich auch nicht redifferenzieren kann.

Die in der Einleitung aufgeworfene Frage, ob die Sonderstellung der Aortenklappen im Hinblick auf ihre Sauerstoffversorgung einen vom bradytropfen Gewebe abweichenden Status der Intercellularsubstanz bedingt, muß negativ beantwortet werden. Wenn man also bisher geneigt war, bei den bradytropfen Geweben den Sauerstoffmangel als differenzierungshemmenden Faktor der Intercellularsubstanz verantwortlich zu machen, dann ergibt die vorliegende Untersuchung, daß dieser Sauerstoffmangel, den man im Bereich der Aortenklappen kaum voraussetzen kann, nicht immer als Hemmfaktor der Differenzierung zu werten ist. Nach diesen Ergebnissen liegt es vielmehr nahe, anzunehmen, daß hier endogene Faktoren wirksam sind, welche die Differenzierung der Intercellularsubstanz steuern, wobei der Sauerstoffmangel vielleicht einen gewissen, bestimmt aber keinen entscheidenden Einfluß auf diese Vorgänge hat. Diese endogenen Faktoren dürften im Zellstoffwechsel der entsprechenden Bindegewebszellen und vielleicht

in der hormonalen bzw. nervösen Steuerung dieser Zellen zu suchen sein. Sie sind ohne Zweifel — wie sich ebenfalls nicht nur aus der vorliegenden Untersuchung, sondern auch in gewissem Sinne aus den anderen, bisher elektronenmikroskopisch durchgeföhrten Untersuchungen ableiten läßt — nicht allein rein funktionell bedingt. Vielmehr scheint die Tendenz zur Differenzierung auch entwicklungs geschichtlich festgelegt zu sein, und sie kann durch funktionelle Gegebenheiten und Besonderheiten lediglich modifiziert werden. Der undifferenzierte Status der Intercellularsubstanz der Aortenklappen mit der reichlich vorhandenen polysaccharidhaltigen Kittsubstanz dürfte, wie auch die besprochenen Beispiele zeigen, unter pathologischen Bedingungen zu Kalk- und Lipoideinlagerungen neigen, die immer in die Kittsubstanz hinein erfolgen.

Zusammenfassung

Die Intercellularsubstanz normaler menschlicher Aortenklappen verschiedener Altersstufen und zweier pathologisch veränderter Klappen (frische Endocarditis verrucosa und Aortenstenose) wurde elektronenmikroskopisch untersucht. Der Mittelwert der Fibrillendicken wird in allen untersuchten Klappenabschnitten und in allen Altersstufen zwischen 20 und 30 μ gefunden.

Bei Anwendung der Bindegewebsversilberungsmethode nach GÖMÖRI ergibt sich in allen Klappenabschnitten und in allen Altersstufen eine unregelmäßige Außenversilberung der Fibrillen. Auf Grund dieses Versilberungsmodus und der Verteilungskurve der Fibrillendicken wird festgestellt, daß die Fibrillen der Aortenklappen einem präkollagenen (embryonalen) Entwicklungsstadium angehören. Eine Weiterdifferenzierung der Fibrillen der Aortenklappen in Richtung auf reifes Kollagen hin konnte weder während des gesamten Lebens noch bei pathologisch veränderten Klappen nachgewiesen werden. Weiterhin wird auf Grund der Versilberungsbefunde angenommen, daß die Altersveränderungen der Aortenklappen in einer Änderung des Verhaltens der Kittsubstanz — Herabsetzung der Affinität zu den Fibrillen, Depolymerisation — zu suchen sind. Auch in den pathologisch veränderten Klappen konnten keine Änderungen des Fibrillenstatus, sondern lediglich Kittsubstanzveränderungen nachgewiesen werden.

Fragen der Altersveränderungen, pathologischer Veränderungen, Einfluß des Sauerstoffes werden diskutiert.

Literatur

- ¹ ALTSHULER, CH. H., and D. M. ANGEVINE: Amer. J. Path. **27**, 141 (1951). —
- ² BAIRATI, A.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **28**, 512 (1952). — ³ BAIRATI, A.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **29** (5), 1096 (1953). — ⁴ BAIRATI, A., e F. MASSARI: Boll. Soc. ital. sper. **29** (7), 1 (1953). — ⁵ BAIRATI, A., e Y. ROULET: Boll. Soc. ital.

biol. sper. **29** (8), 1613 (1953). — ⁶ BARAHONA, R., and M. GORENA: Ref. Südamer. Morph. **5**, 43 (1947). — ⁷ BENNINGHOFF, A.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VI/1, S. 162ff. — ⁸ BÖHME, R., u. P. KLEIN: Pathologie und Bakteriologie des Endocards. Berlin: Springer 1953. — ⁹ CAULEWEART, E. v.: Ref. Schweiz. med. Wschr. **1947**, 64. — ¹⁰ DETTMER, N., I. NECKEL u. H. RUSKA: Z. wiss. Mikrosk. **60**, 290 (1951). — ¹¹ DETTMER, N., u. W. SCHWARZ: Z. wiss. Mikrosk. **61**, 423 (1954). — ¹² GÖMÖRI, G.: Amer. J. Path. **13**, 993 (1937). — ¹³ GRASSMANN, W.: Das Leder **10**, 241 (1955). — ¹⁴ GROSS, J.: Ann. New York Acad. Sci. **52**, 964 (1950). — ¹⁵ GROSS, L., and M. A. KUGEL: Amer. J. Path. **7**, 445 (1931). — ¹⁶ GROSS u. Mitarb.: Amer. Heart. J. **3**, 433 (1928). — ¹⁷ HERRATH, E., v., u. N. DETTMER: Verh. anat. Ges. **1951**, 188. — ¹⁸ HERRATH, E. v., u. N. DETTMER: Z. wiss. Mikrosk. **60**, 282 (1951). — ¹⁹ IRVING, E. A., and S. D. TOMLIN: Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B, **142**, 432 (1954). — ²⁰ KAJIKAWA, K., u. Y. SUMITA: Acta Path. Jap. **3**, 66 (1953). — ²¹ KAJIKAWA, K., u. Y. SUMITA: Acta Path. Jap. **3**, 75 (1953). — ²² KAJIKAWA, K., Y. SUMITA u. M. TAKEDA: Elektron Mikroskopie Studies on the Connective Tissue (report 3). On the Findings on the Silver-imregnated Fibers of the Connective Tissue, 1953. — ²³ LINDNER, E.: Ärztl. Forsch. **11**, 487 (1954). — ²⁴ LINKE, K. W.: Z. Zellforsch. **42**, 331 (1955). — ²⁵ MAROTZKE, R.: Z. wiss. Mirkosk. **61**, 429 (1954). — ²⁶ MASSARI, F.: Boll. Soc. ital. Biol. Sper. **30**, 18 (1954). — ²⁷ MÖNCKEBERG, J. G.: Zit. nach M. STAEMMLE in E. KAUFMANN, Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, 11. u. 12. Aufl., S. 1—377. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1955. — ²⁸ PAHLKE, G.: Z. Zellforsch. **39**, 421 (1954). — ²⁹ RIBBERT, H.: „Die Erkrankungen des Endocards“. In Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie, Bd. 2. 1925. — ³⁰ SCHMITT, F. O., C. E. HALL and M. A. JAKUS: J. Cellul. a. Comp. Physiol. **20**, 11 (1942). — ³¹ SCHNEIDER, F.: Kollegium Darmstadt **1940**, 97. — ³² SCHWARZ, W.: Z. Zellforsch. **38**, 78 (1953). — ³³ SCHWARZ, W.: Z. Zellforsch. **38**, 26 (1953). — ³⁴ SCHWARZ, W.: Virchows Arch. **324**, 612 (1954). — ³⁵ SCHWARZ, W.: Die Zwischensubstanzen des Bindegewebes, in „Kapillaren und Interstitium“. Stuttgart: Georg Thieme 1955. — ³⁶ SCHWARZ, W., u. N. DETTMER: Virchows Arch. **323**, 243 (1953). — ³⁷ SCHWARZ, W., u. G. VESTER: Z. wiss. Mikrosk. **61**, 328 (1953). — ³⁸ STAEMMLER, M.: Die Kreislauforgane. In KAUFMANN, Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie. 1955. — ³⁹ WOLPERS, C.: Klin. Wschr. **1943**, 624. — ⁴⁰ WOLPERS, C.: Klin. Wschr. **1943**, 624.

Dr. ADALBERT JAHNKE, Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie der Freien Universität Berlin, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 15