

Aus dem Anatomischen Institut und dem Gerontologischen Laboratorium
der University of Saskatchewan (Direktor: Prof. Dr. R. ALTSCHUL)

Experimentelle Atherosklerose bei Prärie-Gophern (Citellus oder Arctomys Richardsonii, Sabine) *

Von

RUDOLF ALTSCHUL

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. September 1960)

Seitdem im Jahre 1912 ANITSCHKOW und seine Mitarbeiter bei Kaninchen durch Fütterung von Cholesterin Atherosklerose hervorgebracht haben, wurden auch andere Tierarten auf eine derartige Anfälligkeit untersucht. Dabei fand man, daß Meerschweinchen ebenfalls mit pathologischen Veränderungen auf Cholesterinverfütterung reagieren, wenn auch etwas weniger intensiv als Kaninchen. Affen, Hunde, Katzen, Ratten und Mäuse schienen zuerst vollkommen „immun“ gegen Cholesterin zu sein; später allerdings ergab es sich, daß entweder durch eine eingreifende Änderung der Diät, durch Pyridoxin-Mangel oder durch Ausschaltung der Schilddrüse auch diese Tierarten atherosklerotisch gemacht werden können. Ebenso kann in Hühnern, Gänsen und Tauben durch Cholesterinverfütterung oder einseitige Diät Atherosklerose hervorgerufen werden, wenn auch manche Rassen dieser Tierarten völlig oder bis zu einem gewissen Grade „immun“ sind. Die Ergebnisse bei Schweinen sind nicht eindeutig. In syrischen Hamstern (*Cricetus auratus*) habe ich ohne Schwierigkeit durch Eigelbfütterung und, mit geringerer Regelmäßigkeit, durch Verabreichung von reinem Cholesterin als erster Atherosklerose erzeugt (1950a, b).

Es erscheint von Interesse, die cholesterinresistenten und die cholesterinanfälligen Tierarten einander gegenüberzustellen, um durch eine solche Klassifizierung mehr Einblick in die kausalen Zusammenhänge zwischen Cholesterin-Stoffwechsel und Atherosklerose zu gewinnen.

PAGE hat seinerzeit das Problem erörtert, ob Pflanzenfresser deshalb auf Cholesterin mit pathologischen Veränderungen reagieren, weil sie normalerweise kein Cholesterin enthaltendes Futter aufnehmen und das künstlich zugeführte Cholesterin nicht verarbeiten können. Dagegen können Allesfresser oder Fleischfresser, die normalerweise Cholesterin mit der Nahrung aufnehmen, einen Überschuß leicht, d. h. ohne Schaden, bewältigen. Dem steht nun entgegen, daß auch manche Allesfresser, wie z. B. Hühner, atherosklerotisch gemacht werden können und sogar spontan atherosklerotisch werden. Allerdings sind sie nicht Säugetiere, weshalb das Argument vielleicht nicht am Platze ist.

Um die Frage der Anfälligkeit von Tiergattungen weitergehend zu ergründen, habe ich außer syrischen Hamstern auch eine andere Gattung von Nagerpflanzenfressern mit Cholesterin behandelt, nämlich sog. Prärie-Gopher (*Citellus* oder *Arctomys Richardsonii*, SABINE). Sie werden von den Zoologen als

* Durchgeführt mit Unterstützung der Saskatchewan Heart Foundation.

Erdeichhörnchen bezeichnet, da sie, im Gegensatz zu echten Gophern, keine Maultaschen haben (Abb. 1). Sie stehen dem zentral-europäischen Ziesel sehr nahe. Im Jahre 1950 (a) berichtete ich, daß bei diesen Tieren eine bis 7 Monate dauernde Fütterung mit Cholesterin keine Gefäßveränderungen hervorruft. Später (1960) habe ich mit M. E. FEDOROFF diese Untersuchung an weiteren 22 Tieren dieser Gattung nochmals überprüft, um auch den Cholesterinspiegel im Serum vor und nach Cholesterinverabreichung festzustellen. Dabei ergab es sich, daß nach einer solchen Behandlung das Serumcholesterin bis zu 4078 mg-% ohne Verschiebung von β -Lipoproteinen zu α -Lipoproteinen angestiegen war. Bloß in



Abb. 1. Prärie-Gopher oder Erdeichhörnchen (*Citellus* oder *Arctomys richardsonii*, Sabine), $\frac{1}{2}$ Lebensgröße

2 Tieren haben wir geringfügige morphologische Gefäßveränderungen beobachtet, und zwar je einen kleinen Herd in der Aorta und in einem der beiden Fälle auch Atheromatose eines kleinen Kranzaderzweiges. Bemerkenswert ist, daß in dieser Gruppe von 22 Tieren die beiden Tiere mit den geringen Gefäßveränderungen nicht die höchsten Cholesterinwerte aufwiesen: Sie standen unter den 22 Tieren an 8. und 11. Stelle.

Verschiedene Forscher haben bereits früher versucht, in Tierarten, die sich der Cholesterinbehandlung gegenüber resistent erweisen, durch verschiedene Mittel eine „Bahnung“ für den Cholesterineffekt zu schaffen. Hierher gehört die bereits erwähnte Schilddrüsenausschaltung.

Ich stellte mir nun die Frage, ob vielleicht eine zusätzliche Zellreizung dem Cholesterin einen Weg in und durch das Endothel bahnen würde. Zu diesem Versuche wählte ich Scharlach R (Sudan IV). Dieser fettlösliche Farbstoff schafft einen Wachstumreiz, ohne aber zu bösartigen Geschwülsten zu führen.

Versuchsanordnung

16 Gopher, die in der nächsten Umgebung der Universität gefangen worden waren, wurden nach einigen Wochen Gewöhnung an Gefangenschaft auf eine ad-libitum-Diät gesetzt, die entweder aus speziell zusammengesetzten Nahrungsbrocken bestand oder aus einem besonderen Kuchen. Die Brocken waren mit in Äthyläther gelöstem Scharlach R und reinem

Cholesterin getränkt worden, und zwar so, daß auf 300 g Brocken 0,5 g Farbstoff und 4 g Cholesterin kamen. Dies entspricht prozentuell (1,33 %) einem bedeutend geringeren Cholesteringehalt als in den fast völlig negativen 22 Fällen der früheren Versuchsreihe (3,6 %). Auf diese Art wurden 7 Tiere behandelt. 9 Tiere dagegen erhielten einen Kuchen, der bei verhältnismäßig hoher Temperatur, ungefähr 260° C, aus einem Teig von folgender Zusammensetzung gebacken worden war: 4 Gewichtsteile Eigelbpulver, 1 Gewichtsteil Weizenmehl, Wasser, etwas Hefe und Salz. Mit diesem Kuchen wurde Milch verabreicht, in welche Scharlach R vermischt worden war. Beiderlei Diäten wurden von den Tieren gerne genommen.

Die Dauer der Versuche mit den 16 Gophern betrug 151—296 Tage. Ein Tier starb spontan, zwei töteten einander, die übrigen wurden mit Chloroform oder Barbitursäure getötet. Bei der Autopsie zeigte es sich, daß alle Tiere im Gegensatz zu Kaninchen, die nach einer ähnlichen Cholesterinbehandlung auffallend mager werden, außerordentlich fett waren. Das reichliche Fettgewebe war vom Scharlach R stark rot gefärbt. Histologisch untersucht wurden: Herz, Aorta, Leber, Milz, Lungen, Nieren, Nebennieren, Gehirn, Zunge und in einigen Fällen auch Augen, Keimdrüsen und Schilddrüse. Eine Schwellung im Nacken eines der Tiere stellte sich als Speicheldrüse heraus, die von reichlichen Cholesterinniederschlägen und Schaumzellen umgeben war.

Bei Kaninchen und syrischen Hamstern versuchte ich, durch Scharlach R-Zusatz zur cholesterinreichen Nahrung die Intensität von Atherosklerose zu steigern und bei weißen Ratten eine Bahnung für Gefäßveränderungen durch Cholesterin herbeizuführen. Diese Versuche müssen als negativ angesehen werden und sollen deshalb nicht weiter erörtert werden.

Scharlach R ohne Cholesterinanreicherung der Nahrung hatte bei Kaninchen keinen Einfluß auf den Cholesterinspiegel im Blut, und protrahierte Behandlung mit diesem Farbstoff ohne Cholesterin erzeugte weder in Kaninchen noch in syrischen Hamstern atherosklerotische Veränderungen.

Ergebnisse

Vor allem ist festzustellen, daß kein Unterschied in der Anfälligkeit oder in

der Intensität der Gefäßveränderungen zwischen den mit Brocken oder mit Kuchen gefütterten Tieren bestand. Auch hatten Unterschiede in der Dauer der Behandlung scheinbar keinen Einfluß. Von den 16 Versuchstieren zeigten 4 keine morphologischen Gefäßveränderungen, die als Cholesterinschaden betrachtet werden können, obwohl Verkalkungen von verschiedener Stärke in der Intima (Abb. 2) und in der Media gefunden wurden. Ein Tier zeigte außerordentlich starke und über das ganze Herz verteilte Nekrose und Verkalkung des Muskels (Abb. 3). In einem Tiere fanden sich atypische Gefäßwandinfiltrationen mit deutlichem Zerfall der einwandernden Zellen (Abb. 4) und mit beginnender Umwandlung von Endothelzellen in Schaumzellen (Abb. 5). In allen 16 Tieren waren die Lebern verfettet und in einigen Fällen mehr oder weniger cirrhotisch. Im Gegensatz zu Kaninchen, Meerschweinchen oder syrischen Hamstern, die mit Cholesterin behandelt worden waren, zeigten bei Gophern,

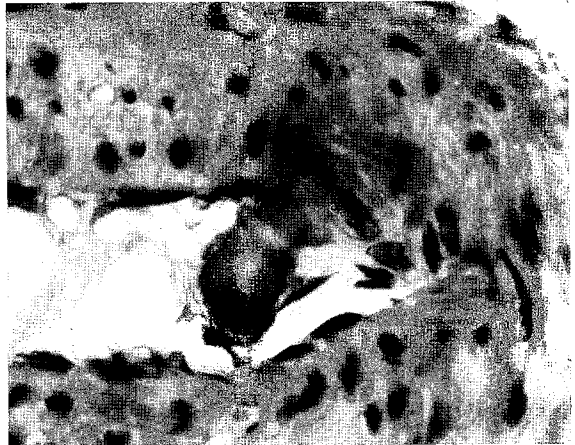


Abb. 2. Gopher A 98. 151 Tage reines Cholesterin und Scharlach R in der Nahrung. Hämatoxylin-Eosin. Vergrößerung 680 ×. Verkalkende Intimaschwellung in einem Ast der Nierenarterie

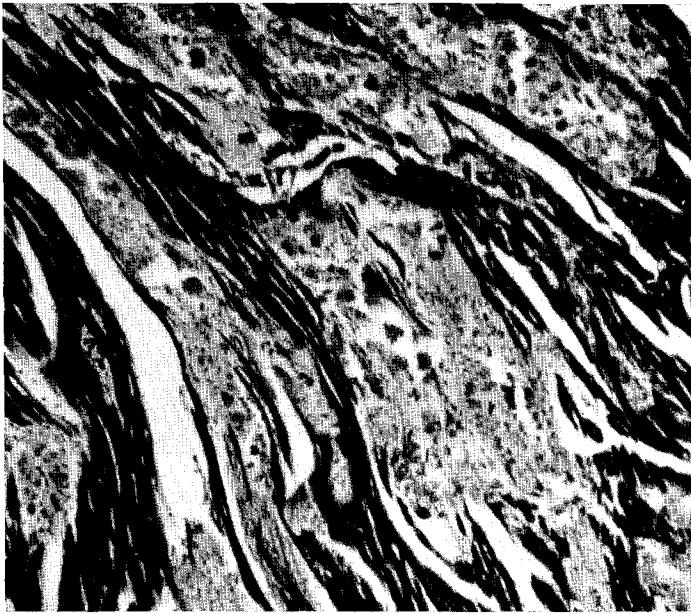


Abb. 3. Gopher A 339. 244 Tage Eigelbkuchen und Scharlach R. Eisenhämatoxylin-Eosin. Vergrößerung 78 \times . Ausgedehnte Nekrose im Herzmuskel. Die erhaltenen Muskelfasern erscheinen dunkel gefärbt. v. Kossa Silbermethode für Kalksalze war positiv

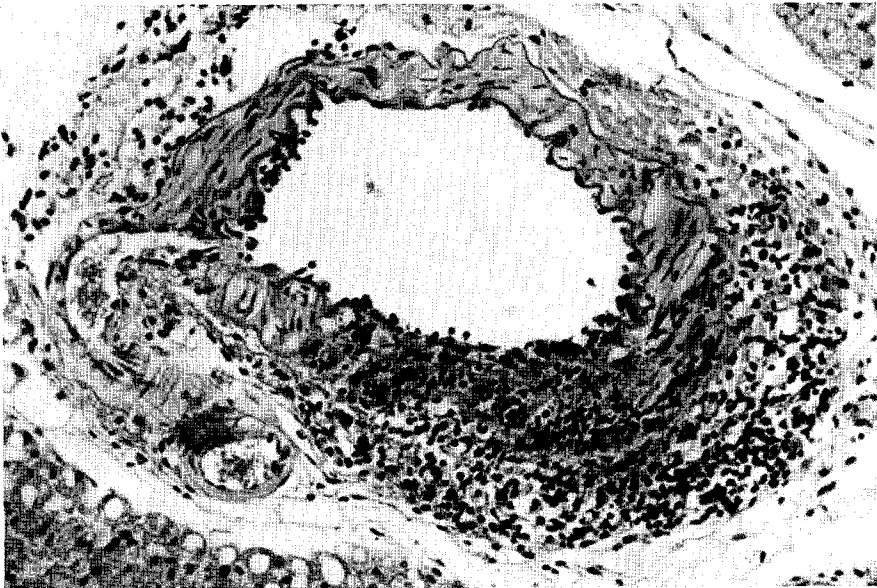


Abb. 4. Gopher A 98. Das gleiche Tier wie in Abb. 2. Hämatoxylin-Eosin. Vergrößerung 220 \times . Zellinfiltration eines Aortenastes

einschließlich jener mit ausgeprägten Gefäß- und Leberschäden, die Zellen der Nebennierenrinde nur in wenigen Fällen, und auch dann bloß in sehr geringem Maße, pathologische Fetтанreicherung.

In einem Tiere kam es zu ausgedehnten Schaumzellanhäufungen im Bindegewebe der Lamina propria des Dünndarmes und, wie bereits erwähnt, zu

Cholesterinniederschlägen im lockeren Bindegewebe am Halse. In einem anderen Fall waren Zellen der visceralen Pleura schaumig entartet und ähnelten weitgehend den Schaumzellanhäufungen in der Intima von cholesterinbehandelten Kaninchen, Meerschweinchen, Hamstern und den positiven Gopherfällen.

Im ganzen wiesen 11 Gopher atherosklerotische Gefäßveränderungen auf, die in Intensität und Verteilung große Unterschiede erkennen ließen. Während in den meisten Fällen die Aorta die stärksten Veränderungen zeigte (Abb. 6 und 7), fehlten sie in einigen Tieren daselbst, aber fanden sich in Gefäßästen. Beispielsweise stammt Abb. 8 von einer Arterie eines Tieres, in welchem die Aorta selbst völlig normal erschien.

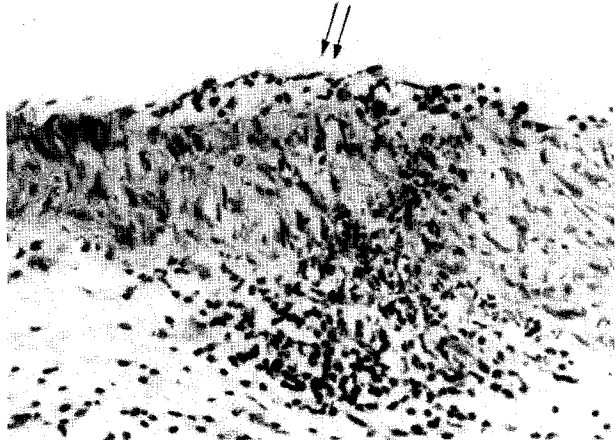


Abb. 5. Das gleiche Tier wie in Abb. 2 und 4. Hämatoxylin-Eosin. Vergrößerung 57 \times . Infiltrierung der Aorta von der Adventitia aus und beginnende schaumige Umwandlung der Endothelzellen (Doppelpfeil)

Diskussion

Die Nekrose und Verkalkung in den Gefäßwänden und im Herzmuskel ist wohl auf den höheren Vitamin D-Gehalt der Nahrung oder auf eine durch die Cholesterinverfütterung erhöhte Synthese von Vitamin D zurückzuführen. Die Resistenz von Gophern gegenüber Verfütterung von reinem Cholesterin oder von Eigelb und die intensive, aber unregelmäßige Reaktion, wenn die Cholesterinverabreichung mit Scharlach R kombiniert wird, zeigen wiederum die Regellosigkeit der experimentellen Arteriosklerose, auf die ich wiederholt hingewiesen habe und der ich ein besonderes Kapitel (Unruliness of experimental arteriosclerosis) in meinem Buch (1950a) gewidmet habe.

In jahrelangem Studium pathologischer Veränderungen an Blutgefäßen habe ich weder bei Kaninchen noch bei Meerschweinchen, Hühnern oder syrischen Hamstern ein Atherom gesehen, welches, wie in Abb. 6 dargestellt, die ganze Aortenwand einnahm. Auch die extreme Auflockerung der Aorta in einem anderen Gopher (Abb. 7) entspricht nicht den auch noch so intensiven Gefäßveränderungen bei anderen Tierarten und ist in scharfem Gegensatz zu den negativen Ergebnissen an den 4 Tieren dieser Versuchsreihe. Daß die Tiere mit extremen Schädigungen, wie sie in Abb. 3, 6 und 7 gezeigt sind, überhaupt noch so lange am Leben geblieben waren, kann wohl nur damit erklärt werden, daß der Anspruch an ihre Lebensäußerungen durch die geringe Bewegung in den Käfigen, die ebennmäßige Temperatur, die fehlende Suche nach Nahrung und das Fehlen von Feinden, sehr herabgesetzt war.

Nun muß man sich wohl fragen, ob der Zusatz von Scharlach R für die Intensität und das gehäufte Auftreten der Gefäßveränderungen verantwortlich ist. Wenn man die 7 Tiere meiner ersten Versuchsreihe (1950a) gemeinsam mit



Abb. 6. Gopher C 340. 296 Tage Eigelbkuchen und Scharlach R. Eisenhämatoxylin-Eosin. Vergrößerung 76 \times . Das Atheroma nimmt die ganze Aortenwand einer Seite ein

den 22 Tieren der zweiten Gruppe (1960), die alle eine Diät mit hohem Cholesteringehalt erhalten hatten, den 16 Tieren, die mit Cholesterin kombiniert

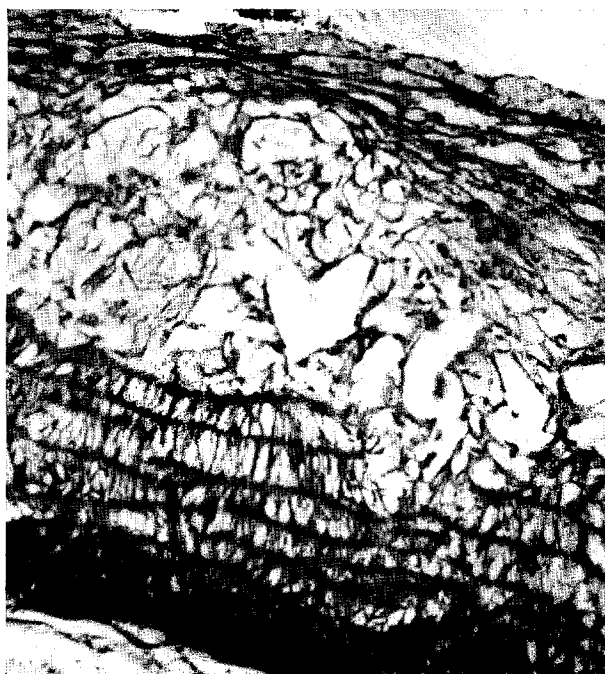


Abb. 7. Gopher C 339. 244 Tage Eigelbkuchen und Scharlach R. Hämatoxylin-Eosin. Vergrößerung 80 \times . Schwellung und Auflockerung der Aortenwand, mit Schaumzellen in der Intima

mit Scharlach R behandelt worden waren, gegenüberstellt, so erscheint ein Unterschied statistisch gesichert.

Weiter ergibt sich die Frage, wie der Farbstoff wirkt: Kommt es zu einer Herabsetzung des Widerstandes der Gefäßwand und vorzüglich des Endothels gegen die Cholesterinämie oder wirkt der Farbstoff auf das Endothel und andere Gewebe auf indirektem Wege, vielleicht über eine Leberschädigung? Eine klare Antwort auf diese Frage ist derzeit nicht möglich.

Man kann aus den Gopher-Experimenten schließen, daß eine primäre Cholesterinämie wenigstens bei Prärie-

Gophern keine wesentliche Atherosklerose hervorruft, sondern daß erst eine Gewebsschädigung, die minimal sein kann, der Cholesterinämie den Weg bahnt.

Diese Theorie ist vor einigen Jahren von DUFF aus hypothetischen Gründen postuliert worden. Meine früheren und die vorliegenden Gopherexperimente scheinen dies zu bestätigen. Bei anderen Tierarten, wie z. B. Kaninchen, die auf Cholesterinämie allein, d. h. ohne zusätzliche Schädigung, mit Atherosklerose reagieren, sowie beim Menschen dürfte der primäre Gewebsschaden in einer genetisch bedingten Anfälligkeit zu suchen sein.



Abb. 8. Gopher C 363. 279 Tage reines Cholesterin und Scharlach R in der Nahrung. Eisenhämatoxylin-Eosin. Vergrößerung 125 \times . Aortenast mit fast völlig obliteriertem Lumen. Organisierung eines Thrombus kann nicht ausgeschlossen werden

Zusammenfassung

Der Prärie-Gopher ist gegen induzierte Atherosklerose im allgemeinen sehr resistent, ungeachtet der Tatsache, daß das Serumcholesterin künstlich hochgetrieben werden kann. Wenn jedoch die Verabreichung von Cholesterin mit der von Scharlach R kombiniert wird, werden in der Mehrzahl der Tiere starke atherosklerotische Veränderungen hervorgerufen, die in manchen Fällen eine extreme Form annehmen.

Summary

The prairie gopher (ground squirrel) is normally very resistant against induction of experimental cholesterol atherosclerosis, in spite of the fact that the serum cholesterol can readily be increased. When, however, the cholesterol administration is combined with intake of Scarlet R (Sudan IV), a great majority of animals develop lesions of atherosclerotic type. Some of the lesions thus produced surpass in intensity those observed in other animal genera.

Literatur

- ALTSCHUL, R.: Selected studies on arteriosclerosis. Springfield, Ill.: Ch. C. Thomas 1950a.
 — Experimental cholesterol arteriosclerosis. *Amer. Heart J.* **40**, 401—409 (1950b).
 —, and M. E. FEDOROFF: Hypercholesteremia in the prairie-gopher. *A.M.A. Arch. Path.* **69**, 689—693 (1960).
 DUFF, G. L.: Experimental cholesterol arteriosclerosis and its relationship to human arteriosclerosis. *A.M.A. Arch. Path.* **20**, 81—123 (1935).
 PAGE, I. H.: Arteriosclerosis and lipid metabolism. *Biol. Symp.* **9**, 43 (1945).

Professor Dr. R. ALTSCHUL, Department of Anatomy
 University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada