

Die Entstehung subendothelialer Lipophagenherde bei Coronarsklerose

D. SINAPIUS

Pathologisches Institut der Universität Göttingen (Direktor: Prof. Dr. J. LINZBACH)

Eingegangen am 29. Februar 1968

The Development of Subendothelial Aggregates of Lipophages in Coronary Sclerosis

Summary. Early stages of coronary fatty streaks (subendothelial lipophages) were investigated by means of light microscopy and histochemistry. Droplets, cap-like deposits or flat layers of lipids from the blood are adsorbed on the surface of the endothelium. The material probably consists of lipoproteins with cholesterol and phospholipids as histochemically demonstrable components. Droplets of lipoproteins frequently are adsorbed on microthrombi rich in erythrocytes. The adsorbed lipoproteins are phagocytized, probably by endothelial cells. In this way lipophages adhere to form aggregates which are covered by a new endothelium and thus incorporated.

Zusammenfassung. An den Coronararterien von 53 Sektionsfällen wurden Vorstadien subendothelialer Lipophagenherde lichtmikroskopisch und histochemisch untersucht. Zunächst werden aus dem Blut Fette als Tropfen, Kappen und flache Schichten herdförmig an die Endotheloberfläche adsorbiert. Die Adsorbate bestehen wahrscheinlich aus Lipoproteiden, in denen sich histochemisch Cholesterin und Phosphatide nachweisen lassen. Kappen und flache Schichten werden direkt an die Oberfläche, Tropfen meist an erythrocytenreiche Mikrothromben adsorbiert. Die adsorbierten Fette werden zum großen Teil an Ort und Stelle phagocytiert, wahrscheinlich durch Endothelien. Auf diesem Wege bilden sich adhäsente Lipophagen, die mit oder ohne Mikrothromben von einem neuen Endothel überzogen und damit incorporiert werden. Adsorption, Phagocytose und Incorporation sind die Grundlage dieser Verfettungsform.

Die formale Entstehung subendothelialer Lipophagenherde bei Lipoidfleckung und Atherosklerose des Menschen und im Tierexperiment ist noch umstritten. Nach der Infiltrationstheorie (ANITSCHKOW, 1913) gelangen Serumlipide durch das Endothel in die Intima und werden dort von Bindegewebszellen phagocytiert. LEARY (1936) nimmt an, daß Lipophagen aus dem Blut an der Endotheloberfläche haften bleiben und dann in die Intima einwandern. Nach RANNIE und DUGUID (1953) werden die adhäsenteren Lipophagen passiv von Endothel überzogen und in die Wand eingefügt. Die Coronararterien sind zur weiteren Klärung dieser Fragen gut geeignet, weil subendothiale Lipophagenherde in allen Stadien der Coronarsklerose und besonders häufig bei älteren Menschen vorkommen. Über Veränderungen, aus denen sich ihre Entstehung ableiten läßt, soll nachfolgend berichtet werden.

Material und Methodik

Ramus descendens ant. und Ramus circumflexus der A. coronaria sin. und A. coronaria d. von 53 Sektionsfällen im Alter zwischen 10 und 86 Jahren wurden im ganzen freipräpariert, aufgespannt und mindestens 12 Std in Formalin (10%) fixiert. Anschließend wurden die Äste ohne Eröffnung in 3 mm starke Scheiben lamelliert und von jedem Ast mindestens 3, häufig 6 und höchstens 12 Scheiben an Gefrierschnitten, teilweise nach Gelatineeinbettung,

untersucht. Färbung mit Sudan III und fluoreszenzmikroskopische Darstellung der Fette mit Benzypyren-Coffein nach BERG.

Histochemische Reaktionen: 1. Cholesterinreaktion nach SCHULTZ, 2. Chromierungsverfahren (Chromierung mit 5%iger Chromsäure, Weiterbehandlung nach BAKER), 3. UV-Schiff-Reaktion nach BELT und HAYES, 4. Methylviolettfärbung in einer 0,01%igen gepufferten Lösung bei pH 2,7 zur Prüfung der Basophilie der Fette, 5. Fettsäure-Reaktion nach MEYER-BRUNOT.

Beobachtungen und Ergebnisse

Bei 32 von 53 Fällen (60%) und 80 von etwa 500 Schnitten (16%) enthält die Intima der untersuchten Coronararterien subendotheliale Lipophagenherde (Abb. 1) aus großen verfetteten Zellen mit wabigem Cytoplasma und kleinen runden Kernen im Zentrum, seltener aus kleineren spindelkernigen Zellen mit zahlreichen kleinen Fetttröpfen im Cytoplasma. Der Herd umfaßt meist eine, seltener 2 und höchstens 5 Reihen verfetteter Zellen. Die Lipophagenreihen werden manchmal durch dünne Bindegewebsschichten unterbrochen und aufgegliedert. Nach außen schließt in der Regel eine Schicht aus zellarmem hyalinem Bindegewebe an, das bei etwa der Hälfte der Beobachtungen kleine und mittelgroße extracelluläre Fetttröpfen enthält. Ödematöse Auflockerungen oder Ansammlungen von Ödemflüssigkeit zwischen Endothel und hyaliner Bindegewebsschicht kommen *nicht* vor. *Subendotheliale Lipophagenherde* wurden frühestens im 3. Lebensjahrzehnt beobachtet, meist an der Oberfläche atherosklerotischer Plaques, gelegentlich auch gleichmäßig verdickter Intimaschichten.

Bei den gleichen und bei anderen Fällen unserer Untersuchungsserie haftet der Intimaoberfläche oft *homogenes extracelluläres Material* an, das sich mit Sudan III gleichmäßig und kräftig anfärbt. Die sudanophile Substanz bildet Tropfen, Kappen und flache Schichten verschiedener Größe und Ausdehnung (Abb. 2 und 3). Sie tritt auch an Serienschnitten, nach Gelatineeinbettung und an Schnitten auf, deren Intima selbst keine sichtbaren Fette enthält. Sie kann daher *nicht* als „Schmierfett“ aus anderen Teilen des Schnittes verschleppt sein. Die Zahl und Ausdehnung der Herde nimmt mit der Dauer der Zeit post mortem bis zur Fixierung des Materials *nicht* zu und wird durch die Todesursache *nicht* erkennbar beeinflußt.

Kappen und flache Schichten haften für sich allein und direkt an der Oberfläche (Abb. 2), Tropfen dagegen sehr häufig in Verbindung mit flachen Abscheidungen (Mikrothromben) (Abb. 3). Diese bestehen meist aus reichlich Erythrocyten, spärlichen und schwer erkennbaren Thrombocyten, aus einer geringen Fibrinmenge und vereinzelten Leukocyten.

Seltener kommen reine Plättchenthromben vor, die entweder diffus mit feinen sudanophilen Teilchen bestäubt oder von Tröpfchen durchsetzt sind.

Erythrocytenreiche Mikrothromben enthalten nicht nur an der Oberfläche, sondern auch im Innern zahlreiche Fetttröpfchen. Manchmal ist jeder Erythrocyt durch sudanophiles Material eingehüllt und der flache Thrombus erst zu erkennen, wenn die Fette durch Methanol-Chloroform vollständig extrahiert sind. Andere flache Mikrothromben mit unregelmäßig eingestreuten Fetttröpfen bestehen aus Thrombocyten, spärlichen Erythrocyten und vereinzelten Granulocyten.

Das sudanophile Material kommt mit und ohne Mikrothromben über Lipophagenherden und über Bindegewebsschichten vor. Seine Menge, Form und

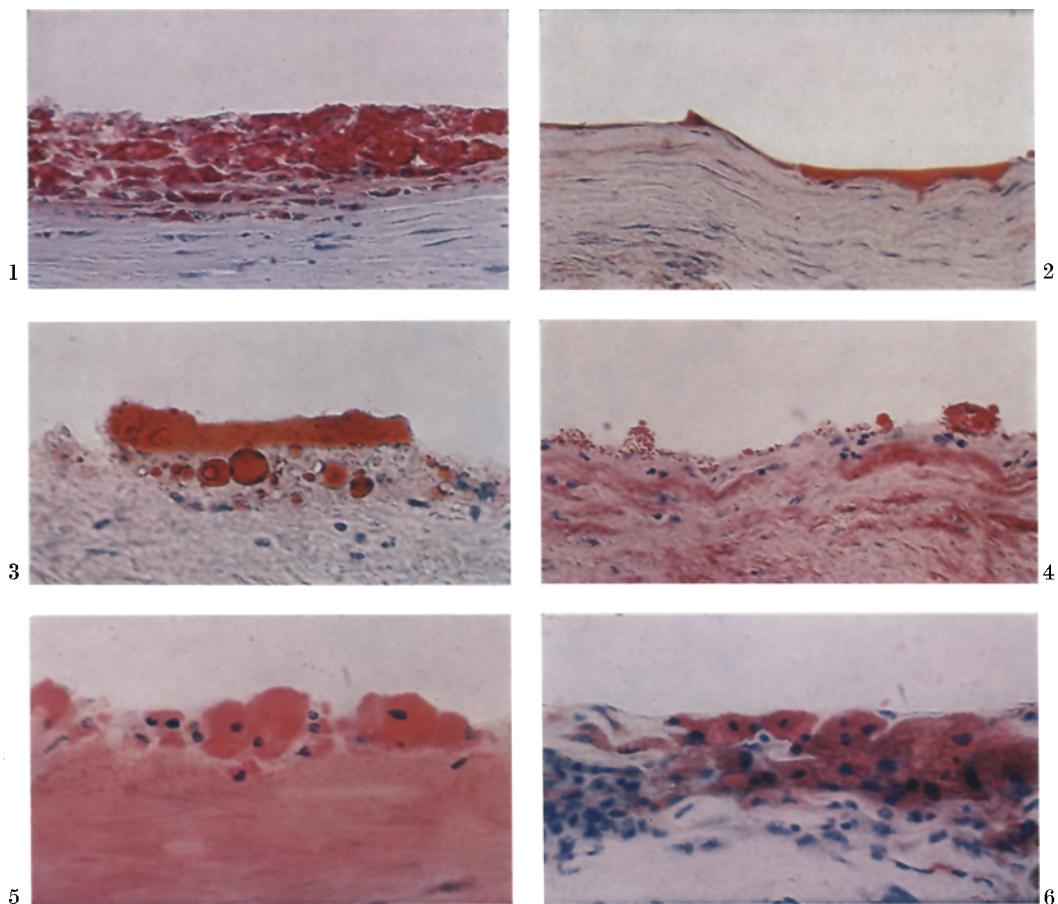


Abb. 1. Subendothelialer Lipophagenherd bei Coronarsklerose. 48 Jahre. Sudan III

Abb. 2. Herdförmige Fettadsorption als dünne Schicht an Intimaoberfläche, Sudan III

Abb. 3. Fetttropfen und Lipophagen in Mikrothrombus. Sudan III

Abb. 4. Herdförmige Adsorption kleiner Fetttropfen und eines in Entwicklung begriffenen Lipophagen (rechts) an Intimaoberfläche. Sudan III

Abb. 5. Kleine Gruppe adhärenter Lipophagen (noch nicht incorporiert). Sudan III

Abb. 6. Oberflächlicher Lipophagenherd, in beginnender Incorporation (rechts von Endothel überzogen, links noch endothelfrei). Sudan III

Flächenausdehnung lässt keine Beziehungen zur Struktur der darunterliegenden Intima erkennen. Es findet sich bei etwa 50 % aller untersuchten Schnitte und fehlt nur bei 2 von 53 Fällen. Am einzelnen Querschnitt wurden manchmal mehr als 50 Tropfen oder Kappen gezählt, die teils in Gruppen dicht beieinander (Abb. 4), teils unregelmäßig verstreut liegen. Ihre Zahl wechselt auch an verschiedenen Schnitten des gleichen Coronararterienastes. Bei etwa 20 % der Erwachsenenfälle sind alle untersuchten Schnitte befallen, bei den übrigen oft nur wenige und selten mehr als 50 %.

Bei 25 von 53 Fällen (47 %) und 60 von 516 Schnitten (12 %) haften der Intima außerdem verfettete Zellen (Lipophagen) in Gruppen oder einzeln an, die in ihrer Form und Größe den subendothelialen Lipophagen entsprechen (Abb. 5). Auch erythrocytenreiche Mikrothromben enthalten neben extracellulären Fetttropfen oft zahlreiche Lipophagen. Andere Oberflächenschichten bestehen aus flachen homogenisierten Mikrothromben, die nur spärliche, unregelmäßig verstreute Lipophagen einschließen. Die Mengenrelation zwischen Lipophagen, extracellulären Fetttropfen und Erythrocyten wechselt.

Oft haften Lipophagen in kleinen Gruppen oder einzeln an der Oberfläche subendothelialer Lipophagenherde.

Kleine endothelfreie Lipophagenherde sitzen oft neben subendothelialen Schaumzellreihen. Andere Lipophagenherde sind oberflächlich nur teilweise von Endothel bedeckt (Abb. 6). Hier scheinen sich Endothelzellen vom Rand her über den Herd zu schieben. Auch Endothelzellen im geschlossenen Zellverband enthalten oft Fetttropfen wechselnder Zahl und Größe. Das Cytoplasma der Endothelien kann mit Fetttropfen ganz vollgestopft und die Zelle selbst flach vorgebuckelt sein. In anderen Endothelien enthält das Cytoplasma nur spärliche kleine Fetttropfen.

Adhäsente extracelluläre sudanophile Substanzen und Lipophagen besitzen die gleichen konstanten histochemischen Eigenschaften. Sie lassen sich gut durch Benzpyren-Coffein fluoreszenzmikroskopisch darstellen. Sie verhalten sich bei der Cholesterinreaktion nach SCHULTZ und beim Chromierungsverfahren (Chromierung in 5%iger Chromsäure 15 min) kräftig, bei der UV-Schiff-Reaktion von BELT und HAYES (Nachweis von Doppelbindungen) schwach positiv. Die Fette färben sich weiterhin mit Methylviolett bei pH 2,7 kräftig an. Die Fettsäure-Reaktion von MEYER-BRUNOT fällt negativ aus. Im polarisierten Licht verhalten sich die adhäsenten cellulären und extracellulären Fette isotrop.

Diskussion

Subendothiale Zellverfettungen der Aorta wurden bisher meist auf Fettinfiltration (ANITSCHKOW, 1913) oder auf Einwanderung angeschwemmter Lipophagen (LEARY, 1936) zurückgeführt. An den Coronararterien des Menschen entstehen sie auf einem anderen Wege, der sich aus lichtmikroskopisch sichtbaren Vorstadien ableiten lässt.

Die Fette haften zunächst als extracelluläre sudanophile Tropfen und Buckel an der Oberfläche, bevor sie teilweise phagocytiert und durch Incorporation in die Intima aufgenommen werden. Das erste Vorstadium ist die herdförmige Fettadsorption an die Endotheloberfläche. Die anhaftenden Fette bilden keine geschlossene Schicht im Sinne des von HUEPER (1956) postulierten Fettfilms, sondern kleine unregelmäßige Herde. Ähnliche Fettauflagerungen hat bisher nur PARKER (1960) bei experimenteller Coronarsklerose, allerdings ohne Beziehungen zur subendothelialen Lipophagenbildung, beschrieben. An den Coronararterien des Menschen sind sie trotz ihrer Häufigkeit und leichten Nachweisbarkeit nicht beachtet worden, weil man sie wahrscheinlich für Schmiereffekte oder post-

mortale Kunstprodukte gehalten hat. Diese Fehlerquellen wurden durch Kontrolluntersuchungen an Serienschnitten und nach Gelatineeinbettung ausgeschlossen. Die Fettauflagerung an der Endotheloberfläche ist als physikalische Adsorption aufzufassen. Die Adsorbate enthalten histochemisch Cholesterin und vielleicht auch Phosphatide (positiver Chromierungstest). Cholesterin wird auch in der Gewebekultur und *in vitro* leicht adsorbiert (ROTHBLAT et al., 1966; GEMANT, 1966). Im Blut ist es an Proteine gebunden und wird wahrscheinlich in dieser Form (als Lipoproteid) adsorbiert. Auch PARKER hält seine Fettauflagerungen bei experimenteller Coronarsklerose für Komplexe aus Lipiden und Proteinen.

Lipoproteide werden nicht nur direkt an die Endotheloberfläche adsorbiert, sondern oft auch an wandständige Abscheidungen, die reichlich Erythrocyten, dagegen wenig Fibrin und Thrombocyten enthalten und die auch ohne sichtbare Fette vorkommen.

Die Mikrothromben können herdförmig ganz von Fetten durchsetzt sein und bei ihrer Incorporation relativ große Fettmengen in das Intimabeet einschleppen. Die Neigung der Erythrocyten zur Fettadsorption verdient besonderes Interesse.

Die Fähigkeit zur Fettadsorption kommt auch Makrothromben zu (SINAPIUS und GUNKEL, 1964; SINAPIUS, 1967), beschränkt sich hier aber in der Regel auf oberflächliche Schichten. In Mikrothromben wird oft (wahrscheinlich wegen der größeren Oberfläche) eine relativ größere Fettmenge aufgenommen. Lipoproteide sind neuerdings auch immunhistochemisch in arteriellen Thromben des Menschen nachgewiesen worden (WOOLF, PILKINGTON und CARSTENS, 1966). Gefäßwandveränderungen, die für die Zahl, Ausdehnung und Lokalisation der Fettadsorbate verantwortlich sein könnten, lassen sich aus unseren Beobachtungen nicht ableiten. Endothelläsionen als mögliche Basis sind lichtmikroskopisch nicht zu sehen, aber auch nicht auszuschließen. Schichtdicke (Stenosen!) und Intimastruktur scheinen ohne Einfluß zu sein. Über die Beziehungen zwischen der jeweils adsorbierten Gesamtfettmenge und den Blutfetten läßt sich noch nichts aussagen. Neben der Menge und Zusammensetzung könnte auch die Stabilität der Blutfette im Sinne HUEPPERS (1956) eine Rolle spielen.

Durch sekundäre Phagocytose der adsorbierten Fette bilden sich an der Endotheloberfläche adhäsente Lipophagen, die LEARY (1936), RANNIE und DUGUID (1953), POOLE und FLOREY (1958) bei experimenteller Fütterungs-Atherosklerose beschrieben, aber als mit dem Blut angeschwemmte verfettete Reticulumzellen gedeutet haben. Für die Lipoidfleckung menschlicher Arterien kann diese Auffassung nicht zutreffen, weil das Blut des Menschen solche Zellen in der Regel nicht enthält. Die Entstehung adhäsenter Lipophagen durch Phagocytose extracellulär adsorbierter Fette ist um so wahrscheinlicher, als die histochemischen Eigenchaften (Cholesteringehalt!) übereinstimmen. Als phagocytierende Zellen kommen bei reinen Fettadsorbaten nur Endothelien, bei verfetteten Mikrothromben auch Blutmonocyten in Betracht. Die Herkunft läßt sich im Einzelfall lichtmikroskopisch nicht feststellen. Nach POOLE und FLOREY (1958) nehmen bei experimenteller Atherosklerose Endothelien Blutfette als Tropfen in ihr Cytoplasma auf.

FRIEDMAN, BYERS und ST. GEORGE (1966) haben experimentell bewiesen, daß aus Endothelien Lipophagen hervorgehen können. Auch an den Coronararterien enthalten viele Endothelien Fetttropfen. Es bestehen daher keine Bedenken, die nachgewiesenen adhärenen Lipophagen aus Endothelien herzuleiten. Die in Endothelien aufgenommenen, in adhärenen Lipophagen enthaltenen und an Mikrothromben adsorbierten Fette werden durch ein neues fettfreies Endothel überzogen und damit incorporiert. Die tierexperimentellen Beobachtungen von RANNIE und DUGUID (1953) über die Incorporation von Lipophagen werden damit für die Atherosklerose des Menschen bestätigt. Nach dieser Vorstellung werden nicht nur parietale Thromben als Grundlage bindegewebiger Schichten (DUGUID, 1946), sondern auch adsorbierte Fette als Ursprung der Atheromatose incorporiert.

An den Coronararterien entstehen wahrscheinlich die meisten, wenn nicht alle subendothelialen Lipophagenherde durch Adsorption und Incorporation von Fetten. Subendothiales Ödem durch Infiltration und als Ausgangspunkt cellulärer Verfettungen kommt bei Coronarsklerose nicht vor. Wie sich andere Gefäßabschnitte verhalten, muß noch geprüft werden. Erst dann wird sich entscheiden lassen, ob Fettinfiltration und Fettadsorption als gleichberechtigte Mechanismen anzusehen sind oder ob die bisherigen Vorstellungen über die Entstehung der Atheromatose revidiert werden müssen.

Infiltration und Adsorption unterscheiden sich in einigen Punkten: Bei *Infiltration* hängt die eingebrachte Fettmenge *auch* vom Flüssigkeitsvolumen ab; bei *Adsorption* werden elektiv Lipoproteide und diese mit jedem einzelnen Schub in relativ großer Menge zugeführt. Adsorptive Verfettungen können wahrscheinlich erheblich rascher entstehen als infiltrative, ihre Abhängigkeit von temporär wirksamen Blutfaktoren ist leichter zu verstehen. Bei Adsorption werden bestimmte Lipidfraktionen an der Oberfläche fixiert, während durch Plasmainfiltration auch alle übrigen Fette, insbesondere Triglyceride in die Intima gelangen müßten. Für das histologische Bild der Atheromatose ist es daher nicht gleichgültig, ob die Fette der Intima infiltrativ oder adsorptiv zugeführt werden.

Literatur

ANITSCHKOW, N.: Über die Veränderungen der Kaninchenaorta bei experimenteller Cholesterinsteatose. *Beitr. path. Anat.* **56**, 379—404 (1913).

DUGUID, J. B.: Thrombosis as a factor in the pathogenesis of coronary atherosclerosis. *J. Path. Bact.* **58**, 207—212 (1946).

FRIEDMAN, M., O. S. BYERS, and S. ST. GEORGE: Site of origin of the luminal foam cells of atherosclerosis. *Amer. J. clin. Path.* **45**, 238—246 (1966).

GEMANT, A.: Adsorption of cholesterol by components of the intima in atherosclerosis. *Amer. J. med. Sci.* **252**, 192—196 (1966).

HUEPER, W. C.: Arteriosclerosis. *Arch. Path.* **39**, 117—131, 187—216 (1945).

LEARY, T.: Atherosclerosis. Special consideration of aortic lesions. *Arch. Path.* **21**, 419—458, 459—462 (1936).

PARKER, R.: An electron microscopic study of experimental atherosclerosis. *Amer. J. Path.* **36**, 19—53 (1960).

POOLE, J. C. F., and H. W. FLOREY: Changes in the endothelium of the aorta and the behaviour of macrophages in experimental atheroma of rabbit. *J. Path. Bact.* **75**, 245—251 (1958).

RANNIE, I., and J. B. DUGUID: The pathogenesis of cholesterol arteriosclerosis in the rabbit. *J. Path. Bact.* **66**, 395—398 (1953).

ROTHBLAT, G. H., R. W. HARTZELL, JR., H. MIALHE, and D. KRITCHEVSKY: The uptake of cholesterol by L5178 Y tissue-culture cells: studies with free cholesterol. *Biochem. biophys. Acta (Amst.)* **116**, 133—145 (1966).

SINAPIUS, D.: Zur Morphologie und Histochemie der Fette in Coronarthromben. *Virchows Arch. path. Anat.* **342**, 144—153 (1967).

—, u. R. D. GUNKEL: Die Verfettung parietaler Thromben der Aorta und ihre Bedeutung für die Atherosklerose. *Virchows Arch. path. Anat.* **337**, 353—366 (1964).

WOOLF, N., T. R. E. PILKINGTON, and K. C. CARSTENS: The occurrence of lipoprotein in thrombi. *J. Path. Bact.* **91**, 383—387 (1966).

Prof. Dr. D. SINAPIUS
Pathologisches Institut der Universität
3400 Göttingen, Goßlerstraße 10