

Fette im Intimaödem der Aorta

Histologische, histochemische und chromatographische Untersuchungen

K.-H. BRÜNDEL und D. SINAPIUS

Pathologisches Institut der Universität Göttingen

Eingegangen am 6. April 1970

Lipids in Aortic Intima Edema

Histological, Histochemical and Chromatographic Investigations

Summary. One hundred and three gelatinous plaques from aortic intima, of 16 autopsies were investigated for their fat content by means of staining methods, lipid histochemistry and thin layer chromatography. The microscopic appearance of these plaques reveals areas of "honeycombed" or homogenous edema as well as areas rich in proliferating cells and ground substance. "Honeycombed" and homogenous intima edema always exhibits a slight diffuse sudanophilia, demonstrating finely dispersed fat. Histochemically phospholipids, cholesterol esters and double bonds were detected as components of these lipids. Thin layer chromatography revealed cholesterol, cholesterol esters and phospholipids.

Areas rich in proliferating cells and increased ground substance lack sudanophilous lipids.

Since intima edema contains few lipids, that condition seems not to be an initial stage of atheromatosis.

Zusammenfassung. 103 glasige Intimaplaques der Aorten von 16 Sektionsfällen wurden farberisch, histochemisch und dünnenschichtchromatographisch auf ihren Fettgehalt untersucht. Histologisch enthalten diese Plaques Herde mit wabigem oder homogenem Intimaödem und zellreiche Proliferationsherde mit vermehrter Grundsubstanz. Wabiges und homogenes Intimaödem zeigen stets eine leichte diffuse Sudanophilie als Ausdruck feindisperser Fette. Histochemisch lassen sich Phosphatide, Cholesterinester und Doppelbindungen, dünnenschichtchromatographisch Cholesterin, Cholesterinester und Phosphatide nachweisen. Zellreiche Proliferationsherde mit vermehrter Grundsubstanz enthalten keine sudanophilen Fette.

Da die Fettmenge im Intimaödem stets gering ist, kann das Ödem nicht als Vorstadium der Atheromatose angesehen werden.

In der deutschen Literatur wird Intimaödem als wichtigste Frühveränderung der Atherosklerose und als Vorstadium nicht nur der Sklerose, sondern auch von Verfettungsherden (Atheromatose) angesehen (Bredt, 1961). Trifft diese Auffassung zu, dann ist auch der Fettgehalt von Ödemherden ein wichtiges Problem. In den meisten Darstellungen ist von fettfreiem Intimaödem die Rede (Büchner, 1941; Bredt, 1941; E. Müller, 1944; Rotter, 1949; Diezel, 1957; Lindner, 1961; Doerr, 1963). In einigen Arbeiten wird auch fetthaltiges Intimaödem beschrieben (Holle, 1942; W. W. Meyer, 1949; Sinapius, 1949; Movat, Haust und More, 1959). Diesen Widerspruch aufzulösen war ein Ziel der vorliegenden Untersuchungen.

An Intimaödemherden der Aorta sollte geklärt werden:

welche Beziehungen zwischen dem histologischen Befund und der Sudanophilie im Ödemherd bestehen,

wie sich die im Ödem nachweisbaren Lipide histochemisch verhalten,
welche Zusammensetzung der Lipidgemische im Ödem sich dünnenschichtchromatographisch ergibt und

welche Beziehungen zwischen Ödem und Atheromatose bestehen.

Die Anwendung der Dünnschichtchromatographie im Gewebsschnitt wurde durch methodische Angaben von Breitenecker und Holczabek (1966) angeregt.

Material und Methodik

Untersuchungsmaterial: Glasig durchscheinende atherosklerotische Plaques von 16 Aorten (Sektionsfälle zwischen 44 und 76 Jahren).

Eingehende histologische und histochemische Untersuchung von 103 Plaques an 10—15 μ starken Gefrierschnitten. Färbungen und Reaktionen im Schälchen (schwimmend).

Lipiddarstellung durch: 1. Sudan III, 2. Sudanschwarz B 0,5% in 55%igem Alkohol (kolloidale Lösung), 3. Chromierungstest zur Phosphatiddarstellung in Anlehnung an Baker, Chromierung mit 5%igem Cr_2O_5 , 4. Cholesterinreaktion nach Schultz (Vorbehandlung mit Eisenalaun, 36 Std bei 37°), 5. UV-Schiff-Reaktion nach Belt und Hayes zur Darstellung von Doppelbindungen, 6. Benzypyren-Coffein nach Berg.

Färbungen: Elastica-van Gieson, Versilberung nach Gömöri. Darstellung der sauren Mucopolysaccharide durch Einschlußfärbung mit 0,03%igem Toluidinblau bei pH 5.

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen an 10 μ starken Gefrierschnitten von Gewebsstücken, die mit einem Hohlbohrer von 4,5 mm Durchmesser als Zylinder aus den Plaques der Aorten ausgestanzt waren.

Dünnschichtchromatographische Methode:

1. Herstellung des Adsorptionsmittels: 30 g Kieselgel G (Firma E. Merck, Darmstadt) in 60 ml Aqua dest. gelöst.

2. Herstellung der Fließmittel: a) für Lipide im engeren Sinn: Petroläther-Diäethyläther-Eisessig (90+10+1), b) für Phosphatide: Chloroform-Methanol-7n Ammoniak (77+30+7).

3. Auskleiden der Trennkammern mit Filterpapier. Einfüllen der Fließmittel. Sättigung des Kammerraums abwarten.

4. Aufziehen der Schnitte 1,5—2,0 cm vom unteren Rand der 20×20 cm messenden Chromatographierungsplatten. Schnitte antrocknen lassen.

5. Übersichten der Platten mit Adsorptionsmittel (Grundausrüstung der Fa. Desaga, Heidelberg). Schichtdicke: 250 μ . Aktivieren der Platten durch 10 min langes Lufttrocknen und 30 min Erhitzen im Trockenschrank bei 105° C.

6. Einbringen der Platten in die vorbereiteten Trennkammern. Steighöhe des Lösungsmittels 16 cm; Trenndauer 30 min.

7. Trocknen der Platten im Trockenschrank bei Raumtemperatur über Nacht.

8. Besprühen der Platten mit Bromthymolblau aus 75 cm Entfernung.

9. Sofortiges Aufzeichnen der Fraktionen.

Ergebnisse

Von 103 untersuchten glasigen Plaques zeigen:

Wabiges Ödem (Ödem im engeren Sinne)	61
Homogenes Ödem	22
Wabiges und homogenes Ödem (Mischform)	6
Zell- und faserreiche Proliferationsherde	12
Fibrin	1

1. *Wabiges Ödem* tritt streifen- oder teichförmig auf (Abb. 1 und 2), bevorzugt im Randwinkel eines Polsters, subendothelial, in flachen Plaques zwischen Membrana elastica interna und Endothel und in der Tiefe der Intima. Das Ödem stellt sich als fleckig gefärbte, von runden oder ovalen Aussparungen durchsetzte, sonst homogene, scharf begrenzte Masse zwischen auseinandergedrängten

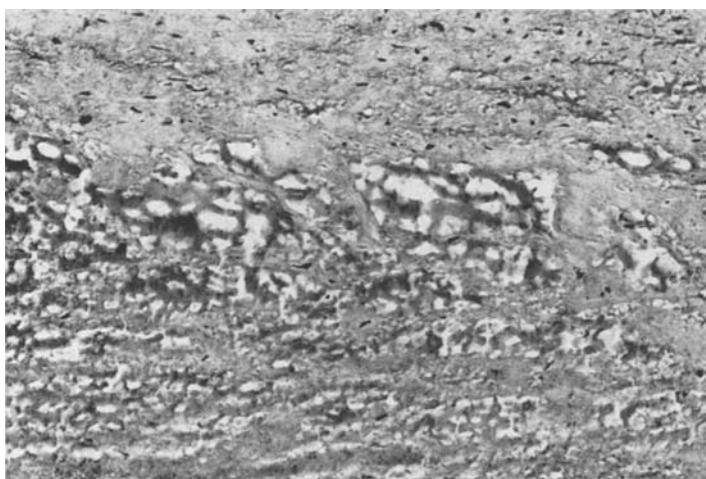


Abb. 1. Streifen- und teichförmiges wabiges Intimaödem in der Tiefe eines Herdes. Diffuse Sudanophilie der Ödemmasse (im Bild dunkelgrau bis grauschwarz). Aorta, 57 J., Sudan III, 120fach

Fasern dar. Durchmesser der Aussparungen 3—20 μ . Das Ödem färbt sich nach van Gieson schmutzig gelb an. 25% der Herde enthalten in medianahen Anteilen Fibrinsterne. Durch wabiges Ödem werden die Fasern nicht nur auseinandergezogen, sondern stellenweise auch unterbrochen. Faserstümpfe ragen ins Ödem und splittern sich in elastische Fäserchen auf. Kollagene Fasern verlieren ihre Fuchsinophilie.

Der Zellgehalt der Ödemherde ist allgemein gering. Die Aufhellungen des Ödems enthalten oft einige Lipophagen und fettfreie monocytoide Zellen. Der Durchmesser der Lipophagen beträgt durchschnittlich 14,8 μ , ihr Kern-durchmesser 5,4 μ .

Die Bestimmung der Zellzahl pro Flächeneinheit am Ödemquerschnitt ergab 6—7 Zellen pro $32400 \mu^2$. Karyolyse und Pyknose sind im Ödemherd häufig. 15 Ödemherde enthalten Erythrocyten. Fast immer sind mono- oder lymphocytenähnliche Zellen nachzuweisen.

Histochemische Befunde: Wabiges Ödem zeigt stets mit Sudan III und Sudan-schwarz B eine gleichmäßige diffuse Sudanophilie (Abb. 1 und 2), ist also mit feindispersen Fetten bestäubt. In subendothelialen Ödemherden ist diese Sudano-philie etwas schwächer als bei anderer Lokalisation. Im Bereich der Ödemherde ist auch die Media fein mit Fett bestäubt. In zellreichen Anteilen der Plaques ist die Sudanophilie wabigen Ödems ebenso abgeschwächt, wie die der benachbarten Grundsubstanz. Nach Chromierungsbehandlung nimmt Ödem einen graublauen Farbton an, dessen Intensität der Stärke der Sudanophilie etwa entspricht. Schwach sudanophile Ödemherde verhalten sich UV-Schiff-negativ, während Herde mit stärkerer Sudanophilie bei dieser Reaktion einen schwach rosa Farbton zeigen. — Die Cholesterin-Reaktion nach Schultz fällt unabhängig vom Grad der Sudanophilie manchmal positiv, manchmal negativ aus. — Mit Toluidin-

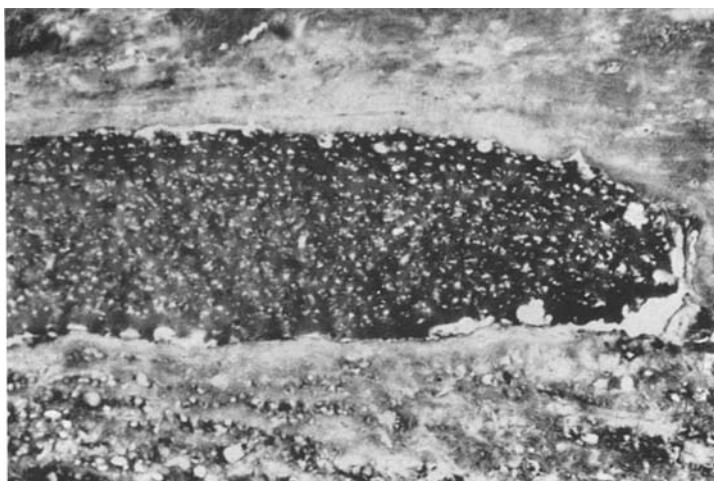


Abb. 2. Scharf begrenzte „Ödempfütze“ (wabiges Intimaödem) in der Tiefe eines Herdes. Diffuse Sudanophilie der Ödemmasse (im Bild grauschwarz). Aorta, 53 J., Sudanschwarz B, 120fach

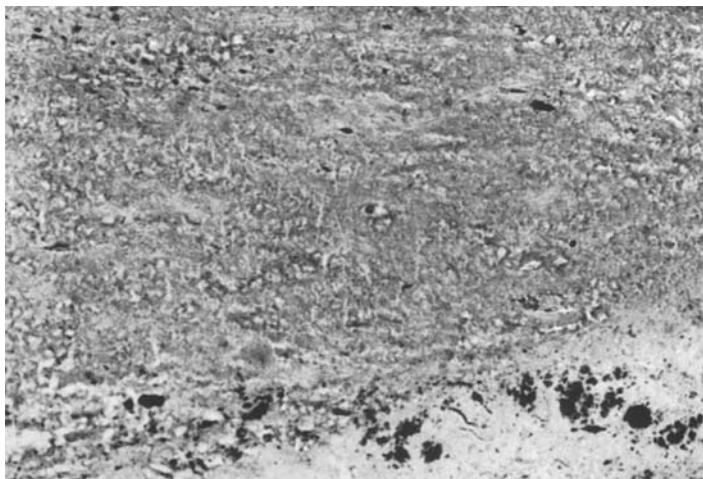


Abb. 3. Homogenes Intimaödem mit diffuser Sudanophilie (im Bild dunkelgrau). Rechts unten außerhalb des Ödems Gruppe von Lipophagen. Aorta, 53 J., Sudan III, 120fach

blau färbt sich wabiges Ödem nur schwach metachromatisch oder überhaupt nicht an. In der Umgebung proliferierender Fibroblasten besteht meist kräftige Metachromasie der Grundsubstanz. Alle histochemisch nachweisbaren Fette des Intimaödems werden durch kaltes Aceton in 5 min vollständig herausgelöst.

2. Homogenes Ödem (Abb. 3) kommt streifen- oder unregelmäßig herdförmig in mediannahen Abschnitten eines Beetes oder in den seitlich abfallenden An-



Abb. 4. Zellreicher Proliferationsherd. Reichlich metachromatische Grundsubstanz. Keine Sudanophilie. Aorta, 57 J., Sudan III, 120fach

teilen vor und läuft nicht selten in die benachbarte gleichmäßig verdickte Intima aus. Die Herde sind im allgemeinen klein.

Homogenes Ödem färbt sich nach van Gieson als strukturlose Masse schwach graugelblich an und zeigt am Sudan-Schnitt eine sehr zarte netzartige Grundstruktur. Die Färbbarkeit benachbarter oder im Herd enthaltener Fasern wird durch homogenes Ödem kaum beeinflußt. Die Zahl der Lipophagen ist mit etwa 5 pro $32400 \mu^2$ etwas geringer als im wabigen Ödem. Kernpyknosen sind auch an diesen Zellen häufig zu beobachten.

Histochemisch unterscheidet sich homogenes von wabigem Ödem nur durch den negativen Befund nach Chromierungsbehandlung und die stets fehlende Metachromasie bei Toluidinblau. In allen anderen beschriebenen Eigenschaften stimmen beide Formen überein.

3. In den *zell- und faserreichen Proliferationsherden* (Abb. 4) fehlt eine abgrenzbare Ödemmasse. Zwischen den oft fischzugartig angeordneten spindelkernigen Zellen und den überwiegend zarten kollagenen und elastischen Fasern breitet sich reichlich Grundsubstanz mit kräftiger Metachromasie bei Toluidinblau aus. Die Grundsubstanz enthält nur selten spärliche kleine Fetttröpfchen mit einem Durchmesser von $0,5\text{--}3 \mu$. Meist fehlt Sudanophilie oder ist nur sehr schwach angedeutet.

4. Ergebnisse der *Dünnenschichtchromatographie*: In Schnitten mit wabigem Intimaödem, leicht diffus verdickter Intima (schwache diffuse Sudanophilie der Grundsubstanz) und atheromatösen Nekrosen waren Cholesterin, Cholesterinester und Phosphatide, dagegen keine freien Fettsäuren nachzuweisen. In einer vierten Gruppe von Schnitten mit zellreichen Proliferationsherden wurden Cholesterinester, freie Fettsäuren und Phosphatide, aber kein freies Cholesterin festgestellt. Triglyceride fehlten in allen Chromatogrammen.

Diskussion

Intimaödem ist bisher häufiger fettfrei (Büchner, 1941; Bredt, 1941; E. Müller, 1944; Rotter, 1949; Diezel, 1957; Lindner, 1961; Doerr, 1963) als fetthaltig (Holle, 1942; W. W. Meyer, 1949; Sinapius, 1949; Movat, Haust und More, 1959) beschrieben worden. Nach dem Ergebnis unserer Untersuchungen beruht dieser Gegensatz in erster Linie darauf, daß dem Intimaödem kein einheitlicher histologischer Befund entspricht. Die Diagnose geht meist vom makroskopischen Befund glasiger, transparenter Plaques aus. Die histologische Untersuchung dieser Plaques ergibt nach unseren Beobachtungen mindestens 3 Gewebsmuster, die sich teils durch die Ödemstruktur, teils durch Zell-, Faser- und Flüssigkeitsgehalt voneinander unterscheiden. Als Ödem im engeren Sinne läßt sich die Ansammlung größerer wabiger oder homogener Ödemmengen zwischen auseinandergedrängten Fasern abgrenzen. Dieses Ödem zeigt stets eine diffuse Sudanophilie als Ausdruck feindisperser Fette. Allerdings läßt sich diese Sudanophilie nur bei einwandfreier Technik der Sudanfärbung, am besten durch kolloidale Sudanlösungen oder mit Benzpyren-Coffein darstellen. Wahrscheinlich sind in der bisherigen Literatur Ödemherde wegen unzureichender Lipiddarstellung als fettfrei bezeichnet worden, die in Wirklichkeit nachweisbare feindisperse Fette enthielten.

Den meisten Beobachtungen fettfreien Intimaödems der Literatur entspricht wahrscheinlich ein drittes Gewebsmuster glasiger Plaques, das histologisch durch zellreiche Proliferationsherde bei mäßiger Grundsubstanzvermehrung gekennzeichnet ist und auch nach unseren Beobachtungen keine sudanophilen Substanzen enthält. Hier wäre es wirklich angebracht, von fettfreiem Intimaödem zu sprechen, wenn man den Befund überhaupt als Ödem gelten läßt. Hierüber kann man verschiedener Meinung sein. Als Ödem wird vielfach eine wäßrige Durchtränkung des Gewebes auf Grund von Flüssigkeitsvermehrung auch dann bezeichnet, wenn sich die Ödemflüssigkeit histologisch nicht eindeutig abgrenzen läßt, sondern wenn sie mit einer reichlichen Grundsubstanz vermischt ist. Gegen eine so weite Anwendung des Ödembegriffs an der Intima der Arterien bestehen insofern Bedenken, als die gleichzeitige Zellproliferation bereits als Sekundärveränderung zu gelten hat. Soll der Ödembegriff an der Intima nur bei echten Primärveränderungen Anwendung finden, dann müßte er für unser Ödem im engeren Sinne, d.h. für histologisch eindeutig abgrenzbare „Ödempfützen“ reserviert bleiben. Zellreiche Proliferationsherde lassen sich davon vor allem durch ihre meist kräftige Metachromasie als Ausdruck vermehrter Mucopolysaccharide unterscheiden (Holle, 1942). Der Fettgehalt des Intimaödems ergibt sich eigentlich zwangsläufig aus seiner formalen Entstehung. Intimaödem wird übereinstimmend auf die Infiltration („Insudation“) von Blutflüssigkeit (Plasma) zurückgeführt (Bredt, 1941; Holle, 1942; W. W. Meyer, 1949; Sinapius, 1949). Es kann hier außer Betracht bleiben, ob die Flüssigkeit durch intaktes Endothel etwa auf dem Wege der Pinocytose oder durch kleine Endothel- und Intimarisze in die Intima gelangt. In jedem Fall müssen mit der Flüssigkeit auch Lipide bzw. Lipoproteide eingeschleppt werden. Nach M. B. Schmidt (1944) lassen sich innerhalb der Blutgefäße die Plasmalipide durch ihre diffuse Sudanophilie darstellen. Intimaödem aus infiltriertem Plasma ist nach unseren Beobachtungen in gleicher

Weise regelmäßig durch diffuse Sudanophilie gekennzeichnet¹. Allerdings ist damit zu rechnen, daß sich die Fette des infiltrierten Plasmas mit denen der präexistenten Grundsubstanz vermischen. Bei der histochemischen Analyse verhält sich sudanophiles Intimaödem daher nicht ganz einheitlich. Die Cholesterinreaktion fällt im Ödемherd nur schwach oder ganz negativ aus. Der leicht positive Chromierungstest spricht für einen geringen Phosphatidgehalt im Ödемherd, die schwach positive UV-Schiff-Reaktion für die Anwesenheit von Doppelbindungen. Im Chromatogramm ließen sich Cholesterin, Cholesterinester und Phosphatide nachweisen. Eigentlich müßte das Ödem auch Triglyceride enthalten. Histochemisch wären diese nicht darzustellen, weil es keine zuverlässige Methode der Triglyceriddarstellung gibt. Wider Erwarten fehlten sie auch im Chromatogramm. Vielleicht ist die angewandte Dünnschichtchromatographie für den Nachweis geringer Triglyceridmengen nicht empfindlich genug. Vielleicht werden die infiltrierten Triglyceride aber auch rasch gespalten und daher nicht mehr chromatographisch nachgewiesen. Zur Klärung werden weitere Untersuchungen nötig sein.

Im deutschen Schrifttum gilt Intimaödem als Vorstadium der Atheromatose (des Ahteroms), auch wenn es gleichzeitig als fettfrei beschrieben wird. Niemand hat bisher erklären können, wie aus fettfreiem Ödem das außerordentlich fettreiche Atherom hervorgehen soll. Aber auch fetthaltiges Ödem kann nach unseren Beobachtungen nicht als Vorstadium des Atheroms angesehen werden. Die Menge feindisperser Fette (schwache diffuse Sudanophilie!) ist häufig viel zu gering und nimmt auch bei wiederholten Ödemschüben (soweit histologisch überhaupt zu erkennen) nicht wahrnehmbar zu. Auch für die Aufnahme vermehrter Fette durch Phagocyten ergibt sich kein Anhalt. Die Zahl der Lipophagen im Ödem bleibt gering. Die Lipophagen selbst sind klein und oft regressiv verändert. Übergangsstadien zum geschlossenen Schaumzellherd und zur atheromatösen Nekrose waren in keinem Fall nachzuweisen. Auch die Zusammensetzung der Fettgemische im Intimaödem spricht gegen enge Beziehungen zwischen Ödem und Atherom. Im Atherom überwiegen Cholesterinester und Cholesterin, während die Cholesterinreaktion im Ödem nur schwach positiv oder ganz negativ ausfällt. Man kann sich kaum vorstellen, daß größere Cholesterinmengen durch Ödemschübe eingeschleppt werden und findet auch keine Anhaltspunkte für eine fortschreitende Anreicherung von Cholesterinestern.

Nach diesen Beobachtungen ist Intimaödem nicht als Vorstadium des Atheroms anzusehen.

Literatur

- Bredt, H.: Entzündung und Sklerose der Lungenschlagader. *Virchows Arch. path. Anat.* **308**, 60—152 (1941).
— Morphologie und Pathogenese der Arteriosklerose. In: *Arteriosklerose*. Stuttgart: Thieme 1961.
Breiteneker, L., Holczabek, W.: Die Dünnschichtchromatographie von Gewebsschnitten. *Histochemie* **7**, 291—296 (1966).

¹ *Nachtrag bei der Korrektur:* Neuerdings betont auch Doerr (Handbuch der allgemeinen Pathologie, 3. Bd., IV. Teil, S. 579, Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970) die dem Blutplasma sehr ähnliche Zusammensetzung des Intimaödems.

- Büchner, F.: Durchblutungsstörungen des Herzmuskels. Dtsch. Milit.-Arzt **6**, 570—578 (1941).
- Diezel, P. B.: Histochemische Befunde an der Gefäßwand bei Arteriosklerose. Verh. dtsch. path. Ges. **41**, 102—106 (1957).
- Doerr, W.: Perfusionstheorie der Arteriosklerose. Stuttgart: Thieme 1963.
- Holle, G.: Über Lipoidose, Atheromatose und Sklerose der Aorta und ihre Beziehungen zur Endarteritis. Virchows Arch. path. Anat. **310**, 160—225 (1942).
- Lindner, J.: Histochemie der Atherosklerose. In: Arteriosklerose. Stuttgart: Thieme 1961.
- Meyer, W. W.: Die Bedeutung der Eiweißablagerung in der Histogenese arteriosklerotischer Intimaveränderungen der Aorta. Virchows Arch. path. Anat. **316**, 268—316 (1949).
- Movat, H. Z., Haust, M. d., More, R. H.: The morphologic elements in early lesions of atherosclerosis. Amer. J. Path. **35**, 93—102 (1959).
- Müller, E.: Zur Morphogenese der tödlichen Koronarsklerose Jugendlicher. Verh. dtsch. path. Ges. **83**, 256 (1944).
- Rotter, W.: Über die Bedeutung der Ernährungsstörung, insbesondere des Sauerstoffmangels für die Pathogenese der Gefäßwandveränderungen mit besonderer Berücksichtigung der „Endarteritis obliterans“ und der Arteriosklerose. Beitr. path. Anat. **110**, 46—102 (1949).
- Sinapius, D.: Zur Genese atherosklerotischer Frühveränderungen der Aorta. Virchows Arch. path. Anat. **318**, 316—351 (1949).
- Zur Morphologie der Fettresorption bei Atherosklerose der Coronararterien. Virchows Arch. path. Anat. **338**, 150—160 (1964).

Professor Dr. D. Sinapius
Pathologisches Institut der Universität
D-3400 Göttingen
Goßlerstr. 10