

## Feinstrukturelle Aspekte der Gefäßveränderungen bei Homocystinurie

S. TAKEBAYASHI\*, H. GRÖBE, D. B. v. BASSEWITZ und H. THEMANN

Abteilung für Medizinische Ultrastrukturforschung im Institut für Medizinische Physik der  
Westf. Wilh.-Universität Münster (Direktor: Prof. Dr. G. Pfefferkorn),  
Kinderklinik der Westf. Wilh.-Universität Münster (Direktor: Prof. Dr. K. D. Bachmann)

Eingegangen am 26. Juni 1971

### Ultrastructural Aspects of the Vessel Alterations in Homocystinuria

*Summary.* Homocystinuria is characterized by a pronounced deficiency of the enzyme cystathionine synthetase. The pathomorphological alterations of the vessel wall are described. In the aorta the elastic fibers are fragmented and the smooth muscle cells are atrophic and decreased in number.

Basically, the same alterations can be demonstrated in small vessels and arterioles. Furthermore, amorphous substances can be observed in intercellular spaces.

These pathomorphological alterations seem to be the result of the disturbed metabolic function of smooth muscle cells.

*Zusammenfassung.* Die Homocystinurie ist durch einen ausgesprochenen Mangel des Enzyms Cystathioninsynthetase charakterisiert. Die pathomorphologischen Veränderungen der Gefäßwand werden beschrieben. In der Aorta sind die elastischen Fasern fragmentiert und die glatten Muskelzellen atrophisch und vermindert. In den kleinen Gefäßen und Arteriolen können grundsätzlich dieselben Veränderungen nachgewiesen werden. Außerdem werden amorphe Substanzen in dem erweiterten Interzellularraum beschrieben. Diese Veränderungen werden als Folge einer gestörten Stoffwechselleistung der glatten Muskelzellen aufgefaßt.

### Einleitung

Die Homocystinurie ist eine familiär auftretende Erkrankung des Methionin-stoffwechsels mit einem autosomal recessiven Erbgang und wurde erstmals von Field u. Mitarb. (1962) und von Gerritzen u. Mitarb. (1962) beschrieben. Die Erkrankung ist durch einen ausgesprochenen Mangel des Enzyms Cystathioninsynthetase charakterisiert (Finkelstein u. Mitarb., 1964). Das klinische Bild ist durch geistige Retardierung, Linsendislokation, Osteoporose, verschiedene Skeletdeformierungen, Thromboembolien und feines blondes Haar charakterisiert (Carson u. Mitarb., 1965; Schimke u. Mitarb., 1965; Gaull, 1969). Besonders eindrucksvoll sind wie in lichtmikroskopischen Untersuchungen gezeigt wurde die pathomorphologischen Veränderungen der elastischen Fasern der Aorta und der Arterien (Gibson u. Mitarb., 1964; Carson u. Mitarb., 1965; Gaull, 1967). Diese Alterationen bestehen vornehmlich in einer Fragmentierung der elastischen Fasern. Im Rahmen dieser Arbeit werden die feinstrukturellen Gefäßveränderungen bei Homocystinurie beschrieben.

---

\* Dozentenstipendiat der Alexander von Humboldt-Stiftung. Gegenwärtige Adresse: Prof. Dr. S. Takebayashi, Department of Pathology, Nagasaki University, School of Medicine, Nagasaki, Japan.

### Auszug aus der Krankengeschichte

V. G., geb. 17. 3. 69, männlich, Krkbl. Nr. 975/1969 und 1984/1970.

*Vorgeschichte.* Die Eltern stammen aus benachbarten Dörfern, sind beide gesund. Blutsverwandtschaft in den letzten Generationen wird verneint. 3 Kinder. Bei dem ältesten, K. G., geb. 31. 8. 65, männlich, wurde im September 1970 die Diagnose Homocystinurie gestellt. Er ist mental mäßig retardiert. G. G., geb. 12. 8. 66, männlich, starb im Alter von 14 Monaten unter einer pulmonalen Symptomatik.

*Eigenanamnese.* Geburt zum Termin nach unauffälligem Schwangerschafts- und Geburtsverlauf. Geburtsgewicht 4200 g. Neugeborenenperiode unauffällig. Im Alter von 2 Monaten erste stationäre Einweisung mit Verdacht auf Meningitis nach zuvor durchgeführter Herniotomie. Bei der Lumbalpunktion entleerte sich blutig-trüber Liquor; Zellzahl 10800/3 Leukocyten und sehr viele Erythrocyten; z.T. Stechapfelformen. Keime kulturell nicht nachweisbar. Nach antibiotischer Behandlung normale Liquorbefunde innerhalb von 14 Tagen. In seiner mentalen und statomotorischen Entwicklung blieb das Kind retardiert. Im Pneumencephalogramm kam ein Hydrocephalus internus mit Porencephalie zur Darstellung. Wegen Entwicklung eines BNS-Krampfleidens anticonvulsive Behandlung mit Mogadan® und Corticosteroiden, jedoch ohne Erfolg. Im September 1970 Oberschenkelfraktur nach Sturz von der Wickelkommode.

Nach Sicherung der Diagnose Homocystinurie durch den erhöhten Methionin-Spiegel im Serum (5,9 mg-%) und Nachweis von Homocystin im Serum (2,3 mg-%) und Harn zweite stationäre Aufnahme Ende Oktober 1970.

*Befunde.* 1½-jähriges, psychomotorisch schwerst retardiertes Kind mit kaum vorhandener Spontanmotorik. Ruckartige Bulbusbewegungen. Blau-livide Verfärbung des linken Arms. Spärliches dünnes Haar von blonder Farbe. Auffallend gestaute Kopfvenen.

*Laboruntersuchungen.* Blutbild und Urinstatus normal, BSG: 20/48 mm n. W.

Serumelektrolyte im Normbereich. Elektrophorese: Albumin 39,4, Alpha<sub>1</sub> 10,8, Alpha<sub>2</sub> 20,6, Beta 10,4 und Gamma-Globuline 18,8 rel. Gesamteiweiß 5,6 g-%.

Gerinnungsphysiologische Untersuchungen: Thrombocytenzahlen schwankend zwischen 60000 und 360000. PTT: 27,3'', Quickwert: 80%. Im Thrombelastogramm, Reaktionszeit und Gerinselbildungszeit verkürzt (270''), jedoch nach 3 Std völlige Auflösung des Gerinsels. Thrombusfestigkeit vermindert ( $m_e = 133$ ).

Röntgenaufnahme der linken Hand: Mäßig retardierte Skelettentwicklung. Deutliche Osteoporose.

EEG: Pathologisch allgemein verändertes EEG, wobei die Grundaktivität über allen Ableitpunkten aus mittel- bis höher-amplitudigen Delta-Wellen, die von rascheren Abläufen des Alpha- und Beta-Wellen-Frequenzbandes überlagert werden besteht. Keine eindeutig hypersynchronen Entladungen.

Augenärztlicher Befund: Linse, Fundus, Papille und Macula beiderseits normal.

Nach einem Behandlungsversuch mit Pyridoxal-Phosphat, Abfall des Methionin-Spiegels im Serum zur Norm (0,9 mg-%), jedoch Homocystin im Harn und Serum unverändert nachweisbar. Vor der geplanten Einstellung auf eine

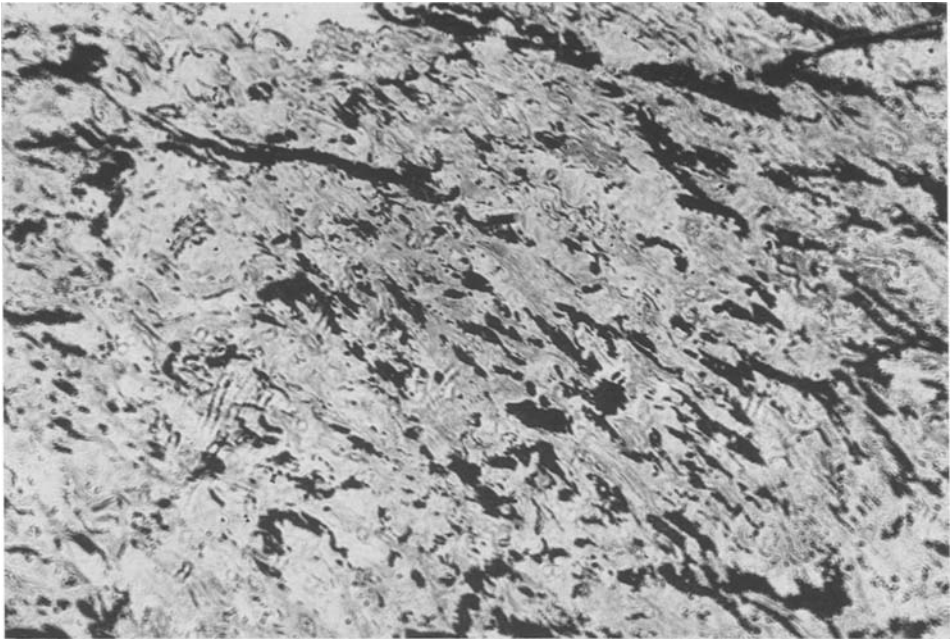


Abb. 1. Aufsplitterung und Fragmentierung der elastischen Lamellen der Aorta. Die cellulären Komponenten sind vermindert. Methylenblau-Parafuchsin Doppelfärbung. Vergr.  $140\times$

Methionin-arme Diät verstarb das Kind am 8. 12. 70 nach rasch zunehmender Verschlechterung des Allgemeinbefindens unter den Zeichen des Herz-Kreislaufversagens im Alter von  $1\frac{3}{4}$  Jahren.

### Material und Methode

Eine Punktion der Aorta ascendens und beider Nieren wurde am 8. 12. 70 — 30 min nach Feststellung des Todes — durchgeführt. Der Patient verstarb im Alter von  $1\frac{3}{4}$  Jahren. Die für die elektronenoptische Untersuchung bestimmten Punktionszylinder wurden sofort nach der Entnahme in 2,25% Glutaraldehyd (0,05 M Phosphatpuffer, 7,5% Rohrzucker, pH 7,4) für 2 Std bei  $4^{\circ}\text{C}$  fixiert und 24 Std in dem angegebenen Puffer ausgewaschen. Zur Nachfixierung wurde 1,33%ige Osmiumsäure (0,05 M Phosphatpuffer, pH 7,4,  $4^{\circ}\text{C}$ ) benutzt. Das Gewebe wurde in der aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Epon 812 eingebettet. Die mit dem Porter-Blum-Mikrotom MT1 gewonnenen Dünnschnitte wurden zusätzlich mit einer 5% Uranylacetatlösung 15 min und anschließend mit einer Bleicitratlösung 3 min nachkontrastiert. Die Durchmusterung der Präparate erfolgte im Siemens Elmiskop I mit einer Strahlspannung von 80 kV unter Verwendung des Doppelkondensors.

Lichtmikroskopische Untersuchungen wurden an  $1\text{ }\mu\text{m}$  dicken mit basischem Fuchsin (Parafuchsin, Chroma Nr. 6502) und Methylenblau (Merck Nr. 1283) gefärbten Schnitten durchgeführt (Morgenroth jr. u. Mitarb., 1970).

### Ergebnisse

Die lichtmikroskopische Untersuchung des postmortal gewonnenen Aortenpunktates zeigt eine Aufsplitterung der elastischen Fasern der Media (Abb. 1).

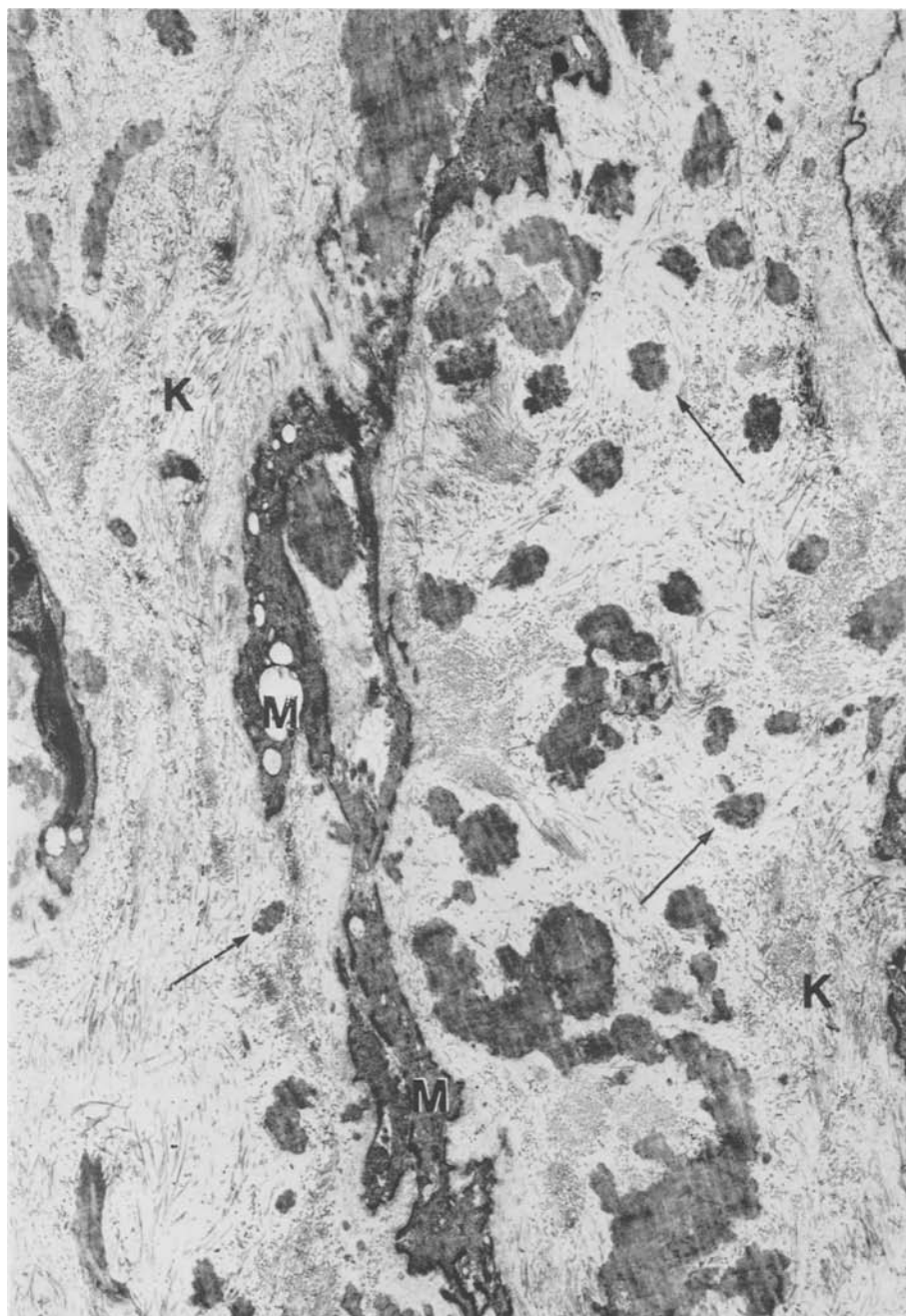


Abb. 2. Homocystinurie. Fragmentierte elastische Lamellen der Aorta (Pfeile). Unregelmäßig geformte und stark atrophische glatte Muskelzellen (*M*). Keine Vermehrung des Kollagen (*K*).  
Vergr. 7000×

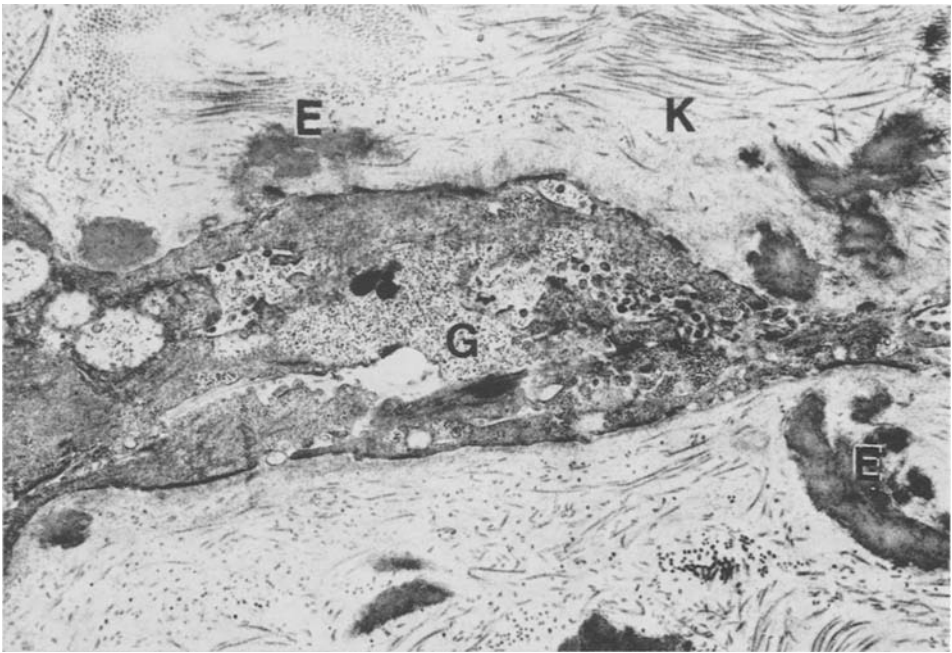


Abb. 3. Homocystinurie. Glykogenanhäufung (G) in einer glatten Muskelzelle der Aorta. Elastische Fasern (E), Kollagen (K). Vergr. 10400 $\times$

Elektronenmikroskopisch stellen sich die verschiedenen Fragmentierungsgrade der amorphen Komponenten der elastischen Fasern besonders deutlich dar (Abb. 2). In einigen Bereichen verschwinden die elastischen Fasern vollständig und werden durch lockere Kollagenbündel ersetzt. Dabei ist die faserige Komponente der elastischen Substanz, die gewöhnlich in der Subintima oder in der Nachbarschaft der innersten elastischen Lamellen auftritt, vermindert oder nicht darstellbar.

Die glatten Muskelzellen der Media sind vorwiegend unregelmäßig geformt und atrophisch (Abb. 2). Einige glatte Muskelzellen enthalten reichlich Glykogen (Abb. 3). Das Cytoplasma der glatten Muskelzellen ist mäßig elektronendicht und zeigt eine gehörige Anzahl von gut entwickelten „dense attachments“. Golgi-apparat und rauhes endoplasmatisches Reticulum können nicht dargestellt werden.

Der Interellularraum der Media ist infolge der Fragmentierung der elastischen Fasern und der Atrophie der glatten Muskelzellen erweitert. Locker angeordnete kollagene Fasern und eine schwach elektronendichte amorphe Substanz füllen den Interellularraum aus.

In den kleinen Arterien und Arteriolen der Niere können die oben beschriebenen Veränderungen ebenfalls beobachtet werden. Besonders eindrucksvoll ist der Verlust an glatten Muskelzellen und die Erweiterung des Intercellular-

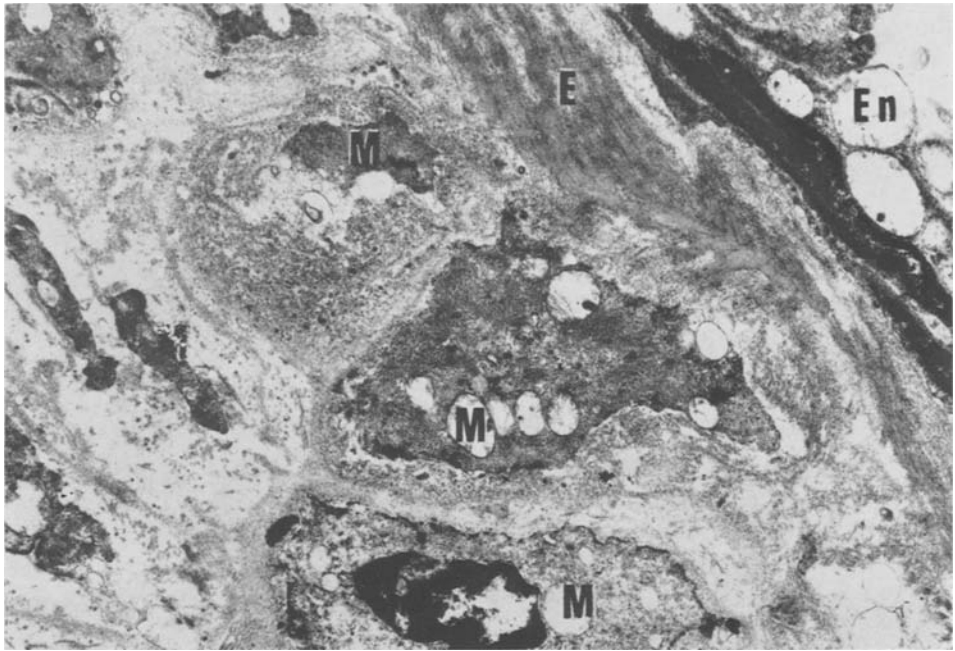


Abb. 4. Homocystinurie. Nierenarteriole. Unterschiedlich atrophische glatte Muskelzellen (*M*). Erweiterter Interzellularraum der Media mit leichtkörniger Substanz. Endothelzellen (*En*), Lamina elastica interna (*E*). Vergr. 9000  $\times$

raumes, der mit einer homogenen Substanz, die nur eine geringe Elektronendichte zeigt, ausgefüllt ist. Diese Veränderungen gehen mit einer Ablagerung von elektronendichten Granula einher (Abb. 4). An den elastischen Fasern kann eine Verminderung der fibrillären Komponenten festgestellt werden. Frische Mikrothromben werden in zahlreichen Capillarschlingen der Glomerula nachgewiesen. Die Fußfortsätze der Podocyten und die Basalmembranen der Capillarschlingen sind nicht verändert.

### Diskussion

Die Aufsplitterung und Fragmentierung der elastischen Lamellen der Aorta wurden bereits von verschiedenen Autoren berichtet (Gibson u. Mitarb., 1964; Carson u. Mitarb., 1965; Schimke u. Mitarb., 1965; White u. Mitarb., 1965; Gaudier u. Mitarb., 1967; Gaull, 1967; Cusworth u. Mitarb., 1969). Die hier durchgeführten elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigen, daß diese Veränderungen mit einer Fragmentierung der amorphen Komponente der elastischen Fasern verbunden sind. Wir sind der Ansicht, daß die Fragmentierung der elastischen Fasern eine Folge der reduzierten Elastin-Synthese der glatten Muskelzellen ist, zumal der größte Teil der glatten Muskelzellen der Media unregelmäßig geformt ist und atrophisch degeneriert.

Es wird heute angenommen, daß Elastinfasern, kollagene Fasern und ebenso auch Grundsubstanzen in der Media der Arterien von glatten Muskelzellen gebildet werden können (Wissler, 1968; Takebayashi, 1970; Takebayashi u. Mitarb., 1971).

Uhlendorf u. Mitarb. (1968) berichten, daß die Cystathioninsynthetase der Fibroblasten bei Homocystinurie nicht nachweisbar oder nur mit einer sehr geringen Aktivität im Vergleich zu Kontrollen vorhanden ist.

Nach unserer Auffassung haben glatte Muskelzellen und Fibroblasten unter bestimmten Bedingungen eine sehr ähnliche Funktion bei der Bildung von Grundsubstanzen (Takebayashi, 1971). Die Veränderungen der glatten Muskelzellen der arteriellen Gefäßwand könnten somit als Folge einer unvollständigen Cystathioninsynthese aufgefaßt werden.

Entsprechend der biochemischen Untersuchung von Smith u. Mitarb. (zitiert nach Carson u. Mitarb., 1965) sind die kollagenen Fasern im intercellulären Raum der Media nicht vermehrt. Weiterhin konnten Smith u. Mitarb., 1965) einen regelrechten Aminosäuregehalt des Elastin bei Homocystinurie nachweisen. Dieser Befund findet seinen morphologischen Ausdruck in der regelrechten Substruktur der amorphen Komponente der elastischen Fasern.

Gibson u. Mitarb. (1964) wiesen lichtmikroskopisch metachromatisches Material in der Gefäßwand nach. Dieses Material könnte den wenig elektronendichten Substanzen entsprechen, die im Interellularraum nachgewiesen werden. Die zahlreichen Mikrothrombi in den Capillarschlingen der Glomerula wurden wahrscheinlich im agonalen Stadium des Patienten gebildet.

### Literatur

- Carson, N. A. J., Dent, C. E., Field, C. M. B., Gaull, G. E.: Homocystinurie: clinical and pathological review of ten cases. *J. Pediat.* **66**, 565—583 (1965).
- Cusworth, D. C., Dent, C. E.: Homocystinuria. *Brit. med. Bull.* **25**, 42—47 (1969).
- Field, C. M., Carson, N. A. J., Cusworth, D. C., Dent, C. E., Neill, D. W.: Homocystinuria: a new disorder of metabolism, Abstracts Xth int. Congr. Pediat., p. 274, Lissabon, 1962.
- Finkelstein, J. D., Mudd, S. H., Irreverre, F., Laster, L.: Homocystinuria due to cystathionine-synthetase deficiency: the mode of inheritance. *Science* **146**, 785—787 (1964).
- Gaudier, P. B., Nuysts, J. P., Bombart, E.: L'Homocystinurie, *Méd. infant.* **3**, 223—235 (1967).
- Gaull, G.: Homocystinuria, In: D. H. M. Woollam (ed.), *Advances in teratology*. New York and London: Logos Press London, Academic Press 1967.
- Klinische und biochemische Aspekte Homocystinurie. *Mschr. Kinderheilk.* **117**, 27—29 (1969).
- Gerritsen, T., Vaugh, J. G., Waisman, H. A.: Identification of homocystine in the urine. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **9**, 494—496 (1962).
- Gibson, J. B., Carson, N. A. J., Neill, D. W.: Pathological findings in homocystinuria. *J. clin. Path.* **17**, 427—437 (1964).
- Morgenroth, K., Schröder, Chr., Themann, H.: Doppelfärbung von Semidünnschnitten mit basischen Farbstoffen. *Mikroskopie* **26**, 260—263 (1970).
- Schimke, R. N., McKusick, V. A., Huang, T., Pollack, A. P.: Homocystinuria. Studies of 20 families with 38 affected members. *J. Amer. med. Ass.* **193**, 711—719 (1965).

- Takebayashi, S.: Pathogenesis of obliterating endarteritis in stomach ulcer-Electron microscopic study. *Acta path. jap.* **20**, 37—46 (1970).
- Backwinkel, K.-P., Themann, H., Lie, T S.: Ultrastrukturelle Aspekte bei Aortentransplantaten: Aufbau der Neointima und das Verhalten der glatten Muskelzellen des Transplantates. Im Druck.
- Uhlendorf, B. W., Mudd, S. H.: Cystathionine synthetase in tissue culture derived from human skin: enzyme defect in homocystinuria. *Science* **160**, 1007—1009 (1968).
- White, H. H., Rowland, L. P., Araki, S., Thempson, H. L., Cowen, D.: Homocystinuria. *Arch. Neurol.* **13**, 455—470 (1965).
- Wissler, R. W.: The arterial medial cell, smooth muscle or multifunctional mesenchyme? *Circulation* **36**, 1—4 (1967).

Prof. Dr. H. Themann  
Abteilung für Medizinische Ultrastrukturforschung  
Institut für Medizinische Physik  
D-4400 Münster (Westf.), Westring 3  
Deutschland