

## Häufigkeit, Lokalisation und Pathogenese der Herzgerüstverkalkung\*

### Vergleichende pathohistologische Untersuchungen am Sektionsmaterial und im Tierexperiment

K. RIESNER und G. SEIFERT \*\*

Pathologisches Institut der Universität Hamburg (Direktor: Prof. Dr. med. G. Seifert)

Eingegangen am 19. August 1971

### Frequency, Localization and Pathogenesis of Calcification of Cardiac Connective Tissues

#### Human Autopsy Material Compared with Results of Animal Experiments

*Summary.* The frequency, intensity and localization of lime incrustations in the annulus fibrosus and the left valvular apparatus are studied in 491 human hearts of all age groups and the disposition by age and sex is recorded. An experimental calcinosis of the cardiac frame was induced in 149 female albino rats by using the model of calciphylaxis. One mg dihydrotachystereine was given orally on the first day of the study. In addition, the single groups of the study received ferrous dextran (10 mg i.v.) or metallic salts (2 mg cobalt chloride or 100—150 mg magnesium chloride or 10 mg manganous chloride or 10 mg zinc acetate daily i.p.) throughout a period up to 17 days. The following results were obtained:

1. In human hearts, lime incrustations are found in the aortic annulus in 40%, in the aortic valve and in the mitral annulus in 22% and in the mitral valve in 8%. The earliest lime incrustations in the mitral and the aortic annulus are recorded in men aged 30, in the aortic valve in men aged 40 and in the mitral valve in men aged 50. In men over 60, calcification of the aortic valve is noted in 50% of the examined cases, in men over 80, in 80—100%. On the other hand, the calcification rate of the mitral annulus and the aortic valve was 30—40% and of the mitral valve about 15% in men over 70. Lime incrustations in the mitral annulus develop significantly earlier and more intense in women than in men. With regard to the more intense calcifications the mitral annulus of women is calcified four times more commonly than that of men, the mitral valve nearly three times.

2. In rats, analogous calcifications can be produced in the annulus fibrosus as well as in the aortic and mitral valves. The calcifications of the mitral annulus are considerably reduced by zinc acetate and manganous chloride. The initial changes during the course of the calciphylactic reaction are an enlargement of the fibroblasts, a swelling of the collagenous fibres, a decomposition of elastic fibres and an increase of acid mucopolysaccharides. From the 4th day of the study an incrustation of lime salts is seen with the highest rate on the 9th. day.

Aging of the cardiac connective tissue and local factors of physical kind (stress or pressure) play the main role in the course of calcification of the cardiac frame. In addition, hormonal factors and disturbances of the electrolyte metabolism have to be discussed to explain the special sex disposition.

*Zusammenfassung.* An 491 menschlichen Herzen aller Altersklassen wurden pathohistologisch und histochemisch die Häufigkeit, Stärke und Lokalisation von Kalkablagerungen im Bereich des Annulus fibrosus und der Klappen des linken Herzens untersucht und die Alters- und Geschlechtsdisposition registriert. Parallel hierzu wurde bei 149 weiblichen Albinoratten nach dem Modell der Calciphylaxie eine experimentelle Calcinose des Herzgerüsts erzeugt. Die Tiere erhielten am 1. Versuchstag 1 mg Dihydrotachysterin oral verabfolgt und in den einzel-

\* Mit freundlicher Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

\*\* Herrn Prof. Dr. M. Ratzenhofer, Graz, zum 60. Geburtstag gemeldet.

nen Versuchsgruppen zusätzlich Eisen-Dextran (10 mg i.v.) oder Metallsalze (tgl. 2 mg Kobaltchlorid oder 100—150 mg Magnesiumchlorid oder 10 mg Manganchlorid oder 10 mg Zinkacetat i.p.) über einen Zeitraum von maximal 17 Versuchstagen. Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. In den menschlichen Herzen finden sich im aortalen Annulus in 40 % Kalkeinlagerungen, in den Aortenklappen und im mitralen Annulus in 22 %, in der Mitralklappe in 8 %. Die frühesten Stadien der Kalkeinlagerungen lassen sich im mitralen und aortalen Annulus ab 30. Lebensjahr registrieren, an der Aortenklappe ab 40. Lebensjahr, an der Mitralklappe ab 50. Lebensjahr. Der aortale Annulus weist nach dem 60. Lebensjahr bei 50 % aller untersuchten Fälle Verkalkungen auf, jenseits des 80. Lebensjahres bei 80—100 %. Demgegenüber sind im mitralen Annulus und der Aortenklappe jenseits des 70. Lebensjahres in 30—40 % Kalkablagerungen nachweisbar, in der Mitralklappe in etwa 15 %. Im mitralen Annulus treten bei Frauen Kalkablagerungen wesentlich früher und zugleich auch stärker als bei Männern auf. Bei Berücksichtigung besonders der stärkeren scholligen Verkalkungen ist der mitrale Annulus bei Frauen 4mal häufiger verkalkt als bei Männern, die Mitralklappe fast 3mal.

2. Bei der Ratte lassen sich analoge Verkalkungen im Annulus fibrosus und der Aorten- sowie Mitralklappe erzeugen. Die Verkalkungen werden besonders am mitralen Annulus durch Zinkacetat und Manganchlorid stark vermindert. Die initialen Veränderungen im Ablauf der calciphylaktischen Reaktion bestehen in einer Schwellung der Fibroblasten, einer Quellung der kollagenen Fasern, einem Zerfall elastischer Fasern und einer Vermehrung saurer Mucopolysaccharide. Ab 4. Versuchstag kommt es zu einer Einlagerung von Kalksalzen mit Höhepunkt am 9. Versuchstag.

Beim Ablauf der Herzgerüstverkalkung spielen Alterungen des Herzbindegewebes und lokale mechanisch-physikalische Faktoren (Druckbelastung) die Hauptrolle. Zusätzlich müssen zur Erklärung der besonderen Geschlechtsdisposition am mitralen Annulus hormonale Faktoren und Störungen der Elektrolytregulation diskutiert werden.

Seit den grundlegenden Untersuchungen von Mönckeberg (1904) und De-witzky (1910) über Verkalkungen der menschlichen Herzklappen und des Herzgerüsts sind zahlreiche Arbeiten zu diesem Problem mit unterschiedlichen Ergebnissen erschienen (Ribbert, 1924; Giese, 1932; Martens, 1932; Sosman und Wosika, 1933; Karsner und Koletsky, 1947; Dry und Willius, 1939; Epstein, 1940; Geill, 1951; Bürger und Lohmann, 1963; Doerr, 1970 u.a.). Die Angaben über die Häufigkeit, Lokalisation und Altersverteilung der Calcifikation sind uneinheitlich. Als ursächliche Faktoren werden teils altersbedingte Strukturwandlungen des Klappengewebes diskutiert (Sell und Scully, 1965), teils auch entzündliche Klappenalterationen (Karsner und Koletsky, 1947). Die differenten Ergebnisse der Untersucher beruhen nicht zuletzt darauf, daß die Auswahl des Untersuchungsmaterials nach makroskopisch faßbaren Befunden vorgenommen worden ist.

Neue Aspekte ergeben sich aus der Anwendung des Modells der experimentellen Calciphylaxie nach Selye (1962) zur Erzeugung einer Herzgerüstcalcinose, insbesondere die Möglichkeit, den pathogenetischen Ablauf der Verkalkung zu studieren und mit den Befunden an menschlichen Herzen zu vergleichen.

In der vorliegenden Arbeit soll daher versucht werden, durch eine systematische pathohistologische Befunderhebung an menschlichen Herzen die Häufigkeit, Stärke und Lokalisation der Kalkablagerung und ihre Beziehung zu Alter und Geschlecht zu analysieren. Vergleichend hierzu soll geprüft werden, welche Rückschlüsse sich aus der experimentellen Herzgerüstcalcinose auf die Pathogenese der menschlichen Calcinose ziehen lassen.

## Untersuchungsgut und Methodik

### 1. Obduktionsmaterial

Zur Untersuchung gelangten 491 menschliche Herzen aller Altersklassen. Eine Auswahl nach Krankheitsgruppen wurde nicht getroffen, desgleichen auch nicht nach makroskopisch erkennbaren Veränderungen des Herzgerüsts. Um für die einzelnen Altersklassen genügend Vergleichsfälle beurteilen zu können, wurde lediglich am Ende der Materialsammlung insofern eine Auswahl vorgenommen, als die im Obduktionsgut weniger vertretenen jüngeren Lebensjahre besonders berücksichtigt wurden. Die Altersgliederung des Obduktionsmaterials geht aus den Tabellen 2—6 hervor. Die Herzen wurden nach der üblichen Obduktionstechnik eröffnet, makroskopisch beurteilt und dann in toto formolfixiert. Nach Abschluß der Fixation wurden folgende Gewebsstücke entnommen:

1. Annulus fibrosus der rechten Aortenklappe im Bereich des Abganges der A. coronaria dextra (= Aortaler Annulus).
2. Rechte Aortenklappe am Abgang der A. coronaria dextra.
3. Annulus fibrosus des hinteren Mitralsegels in Klappenmitte (= Mitraler Annulus).
4. Hintere Mitralklappe in Klappenmitte.

Die Gewebsstücke wurden nach Formolfixation in Paraffin eingebettet und mit folgenden Methoden gefärbt: Hämatoxylin-Eosin, van Gieson, Elastica (Weigert), PAS-Reaktion, Astrablau, v. Kossa-Reaktion und Calciumnachweis nach Voigt (1959) mit Naphthalhydroxamsäure. Der Stärkegrad der Verkalkung wurde an der v. Kossa- und Voigtschen Reaktion bei 30facher Vergrößerung nach folgenden Kriterien beurteilt: staubförmige Verkalkungen je nach Ausmaß und Dichte mit + bis +++, zusammenhängende gröbere schollige Verkalkungen mit ++++ bis ++++++. Die unterschiedliche Zahl von beurteilten Präparaten für die 4 Entnahmestellen erklärt sich daraus, daß nur solche Schnitte pro Entnahmestelle ausgewertet wurden, die eine einwandfreie topographische Differenzierung ermöglichten. Die Auswertung erfolgte „blind“, d.h. ohne Kenntnis des makroskopischen Befundes, Alters, Geschlechts oder Grundleidens. Zur Bestimmung der Signifikanz der Prozentwerte wurde die Vierfeldertafel ( $2 \times 2$  contingency table) herangezogen, wobei P die Wahrscheinlichkeit bedeutet, daß kein Unterschied besteht, und FG den gewählten Freiheitsgrad angibt. Bei den gewählten Werten von P 0,05 und FG 1 wird ein signifikanter Unterschied dann angenommen, wenn die Wahrscheinlichkeit, daß kein Unterschied besteht, nicht mehr als 5% beträgt (Documanta Geigy, 1960).

### 2. Tierexperimentelles Material

Die Untersuchungen wurden an 149 jungen weiblichen Albinoratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 140 g durchgeführt. Die Tiere erhielten während des Versuches Altromin-Standardfutter und Trinkwasser ad libidum. Es wurden folgende Versuchsgruppen gebildet (s. Tabelle 1):

*Gruppe 1.* Verabfolgung von 1 mg Dihydrat chysterin (DHT) in 1 ml ölgiger Lösung (= 1 ml AT 10) am 1. Versuchstag mit der Schlucksonde. Tötung der Tiere nach 2—17 Versuchstagen.

*Gruppe 2.* Verabfolgung von DHT wie Gruppe 1, außerdem 10 mg Eisen-Dextran i.v. am 8. Versuchstag.

*Gruppe 3.* Verabfolgung von DHT wie Gruppe 1, außerdem zur Verhinderung der Verkalkung 2 mg Kobaltchlorid i.p. täglich vom 1.—17. Versuchstag.

*Gruppe 4.* Verabfolgung von DHT wie Gruppe 1, außerdem zur Verhinderung der Verkalkung 100—150 mg Magnesiumchlorid i.p. täglich vom 1.—15. Versuchstag.

*Gruppe 5.* Verabfolgung von DHT wie Gruppe 1, außerdem zur Verhinderung der Verkalkung 10 mg Manganchlorid i.p. täglich vom 1.—10. Versuchstag.

*Gruppe 6.* Verabfolgung von DHT wie Gruppe 1, außerdem zur Verhinderung der Verkalkung 10 mg Zinkacetat täglich vom 1.—17. Versuchstag.

*Gruppe 7.* Kontrollgruppe.

Außerdem wurden in den Gruppen 2—6 die Metallsalze auch ohne DHT verabfolgt (s. Tabelle 1). Nach Tötung der Tiere in Äthernarkose wurden folgende Herzteile zur weiteren histologischen Untersuchung entnommen (s. Abb. 1):

1. Linke Tasche der Aortenklappe (AO).

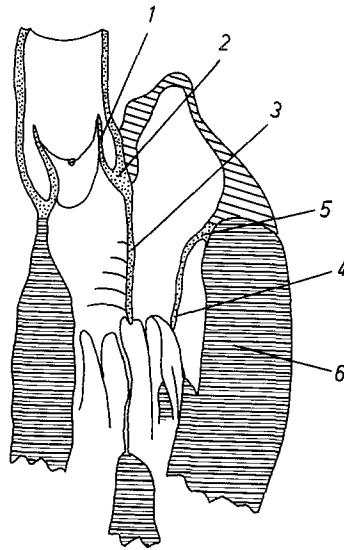


Abb. 1. Schematische Darstellung der Gewebsektoren aus dem Rattenherz: 1 linke Taschenklappe der Aorta (AO), 2 Annulusanteil der linken Taschenklappe der Aorta und des vorderen Mitralsegels (A1), 3 vorderes Mitralsegel (M1), 4 hinteres Mitralsegel (M2), 5 Annulusanteil des hinteren Mitralsegels (A2), 6 Kammermuskulatur linker Herzventrikel

Tabelle 1. Übersicht über die Versuchsanordnung

Gruppe	Applizierte Substanzen (pro 100 g Körpergewicht)		Versuchsdauer (Tage)	Tierzahl	Mittleres Körpergewicht (g) 1. Versuchstag
	1. Tag (oral)	täglich (intraperitoneal)			
1	1 mg DHT <sup>a</sup>	—	2—17	20	135
2a	1 mg DHT	10 mg FeDex <sup>a</sup> (i. v.) nur am 8. Tag	9—17	10	137
2b	—	10 mg FeDex (i. v.) nur am 1. Tag	2—11	10	158
3a	1 mg DHT	2 mg $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$	2—17	20	146
3b	—	2 mg $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$	2—9	8	143
4a	1 mg DHT	100—150 mg $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$	4—15	19	142
4b	—	100—150 mg $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$	2—15	6	137
5a	1 mg DHT	10 mg $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$	4—10	19	145
5b	—	10 mg $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$	3—15	7	131
6a	1 mg DHT	10 mg Zn-Acetat	4—15	18	149
6b	—	10 mg Zn-Acetat	3—19	7	132
7	—	—	14	5	135

<sup>a</sup> DHT = AT 10 wurde freundlicherweise von den Farbenfabriken Bayer, Leverkusen, und FeDex (Eisen-Dextran) = Myofer (50 mg komplex gebundenes dreiwertiges Eisen/1 ml Lösung) von den Farbwerken Hoechst AG, Frankfurt-Höchst, zur Verfügung gestellt.

2. Annulusanteil der linken Aorten-Taschenklappe und des vorderen Mitralsegels = Aortaler Annulus (A1).
3. Vorderes Mitralsegel (M1).
4. Hinteres Mitralsegel (M2).
5. Annulusanteil des hinteren Mitralsegels = Mitraler Annulus (A2).

Die Färbemethoden waren die gleichen wie bei den menschlichen Herzen. Das Ausmaß der Verkalkung wurde an Hand der v. Kossa- und Voigtschen Reaktion mit + bis ++++ bewertet. Weitere methodische Einzelheiten finden sich in der Dissertation von Riesner (1970).

## Befunde

### 1. Obduktionsmaterial

Mit der angewendeten Mikromethode des histochemischen Kalknachweises mittels der v. Kossa- und Voigt-Reaktion ist es möglich, auch frühe und leichtere Stadien der Kalkeinlagerung zu erfassen, die sich dem makroskopischen Nachweis entziehen oder von anderen sklerosierenden Klappenveränderungen schwer abgrenzbar sind. Unter Hinweis auf die Tabellen 2—5, aus denen die prozentuale Häufigkeit der Calcinosen für die einzelnen Altersgruppen — getrennt für Frauen und Männer — hervorgeht, lassen sich folgende Feststellungen treffen:

Die prozentuale *Häufigkeit von Kalkablagerungen* liegt insgesamt am höchsten im Bereich des aortalen Annulus fibrosus und am niedrigsten in der Mitralklappe. Die Prozentzahlen betragen — ohne Berücksichtigung der Geschlechtsverteilung und des Stärkegrades der Verkalkung — für den aortalen Annulus 40%, für die Aortenklappe und den mitralen Annulus je 22% und für die Mitralklappe 8%.

Bei einer Aufgliederung nach dem *Geschlecht* ergibt sich — ohne gleichzeitige Berücksichtigung der Altersverteilung und des Stärkegrades der Verkalkung — lediglich für den aortalen Annulus ein etwas häufigeres Vorkommen bei Männern (43% gegenüber 38% bei Frauen), während Kalkablagerungen an der Aorten- und Mitralklappe sowie am mitralen Annulus bei Frauen insgesamt etwas häufiger vor-

Tabelle 2. *Häufigkeit histochemisch nachweisbarer Verkalkungen des Annulus fibrosus der rechten Aortenklappe*

Lebensjahre	Frauen			Männer		
	Fall- zahl	Kalkablagerungen		Fall- zahl	Kalkablagerungen	
		Zahl	%		Zahl	%
0—9	1	0	0	3	0	0
10—19	1	0	0	6	0	0
20—29	3	1	33	7	0	0
30—39	9	0	0	5	1	20
40—49	16	1	6	17	4	23
50—59	22	5	23	34	9	26
60—69	44	15	34	74	36	49
70—79	68	28	41	49	25	51
80—89	35	25	71	22	17	77
90—99	1	1	100	5	4	80
Insgesamt	200	76	38	222	96	43

Tabelle 3. *Häufigkeit histochemisch nachweisbarer Verkalkungen der rechten Aortenklappe*

Lebensjahre	Frauen			Männer		
	Fall- zahl	Kalkablagerungen		Fall- zahl	Kalkablagerungen	
		Zahl	%		Zahl	%
0—9	1	0	0	2	0	0
10—19	1	0	0	6	0	0
20—29	3	0	0	7	0	0
30—39	9	0	0	4	0	0
40—49	16	1	6	17	2	12
50—59	23	4	17	32	6	19
60—69	43	8	19	72	13	18
70—79	62	25	40	50	12	24
80—89	34	11	32	23	7	30
90—99	1	0	0	5	2	40
Insgesamt	193	49	25	218	42	19

Tabelle 4. *Häufigkeit histochemisch nachweisbarer Verkalkungen des Annulus fibrosus des hinteren Mitralsegels*

Lebensjahr	Frauen			Männer		
	Fall- zahl	Kalkablagerungen		Fall- zahl	Kalkablagerungen	
		Zahl	%		Zahl	%
0—9	2	0	0	5	0	0
10—19	1	0	0	4	0	0
20—29	3	0	0	6	0	0
30—39	10	1	10	4	0	0
40—49	16	2	12	15	0	0
50—59	22	1	4	33	2	6
60—69	46	13	28	79	14	18
70—79	68	22	32	48	13	27
80—89	36	14	39	22	7	32
90—99	1	0	0	5	3	60
Insgesamt	205	53	26	221	39	18

kommen. Die Prozentwerte liegen bei 25—26 % an der Aortenklappe und am mitralen Annulus (gegenüber 18—19 % bei Männern) und bei 11 % an der Mitralklappe (gegenüber 6 % bei Männern).

Zur Bestimmung der *Signifikanz der Prozentwerte* wurde die Vierfeldertafel herangezogen und gleichzeitig auch noch das Ausmaß der Verkalkung berücksichtigt. Für die vier untersuchten Regionen des Herzgerüsts ergeben sich für das männliche und weibliche Geschlecht sowie bei Erfassung aller (auch der leichten) Verkalkungsgrade folgende Werte: Aortaler Annulus 1,15mal häufiger bei Männern als bei Frauen; Aortenklappe 1,3mal, mitraler Annulus 1,45mal und Mitralklappe 1,75mal häufiger bei Frauen als bei Männern. Unter Berücksichtigung von

Tabelle 5. Häufigkeit histochemisch nachweisbarer Verkalkungen der hinteren Mitralklappe

Lebensjahre	Frauen			Männer		
	Fall- zahl	Kalkablagerungen		Fall- zahl	Kalkablagerungen	
		Zahl	%		Zahl	%
0—9	2	0	0	4	0	0
10—19	1	0	0	3	0	0
20—29	3	0	0	5	0	0
30—39	10	0	0	4	0	0
40—49	15	0	0	14	0	0
50—59	19	0	0	30	1	3
60—69	42	7	17	75	3	4
70—79	60	8	13	47	8	17
80—89	34	6	18	18	1	6
90—99	1	0	0	4	0	0
Insgesamt	187	21	11	204	13	6

P kleiner als 0,05 (bei FG 1) sind die Werte für die Mitralklappe (im Lebensalter der 7. Dekade) und für den mitralen Annulus (über alle Altersstufen) statistisch signifikant. Eine weitere Verschiebung der Zahlenrelation zugunsten des weiblichen Geschlechts ergibt sich dann, wenn gleichzeitig auch der Stärkegrad der Verkalkung in die Berechnung einbezogen wird. Werden nur die grobscholligen stärkeren Kalkablagerungen erfaßt, die in der Regel bereits makroskopisch erkennbar sind, so lassen sich folgende Häufigkeitsunterschiede in der Geschlechtsverteilung feststellen: Verkalkungen des mitralen Annulus (Abb. 2, 3) 4mal, Mitralklappe 2,9mal, aortaler Annulus 1,7mal und Aortenklappe 1,2mal häufiger bei Frauen als bei Männern. Stärkere Verkalkungen des Herzgerüsts sind somit bei Frauen insgesamt häufiger als bei Männern, wobei besonders die Zahlenwerte für den mitralen Annulus und die Mitralklappe statistisch signifikant sind.

Weitere Einblicke in den Ablauf der Verkalkung ergeben sich bei einer Aufgliederung nach *Lebensaltern*. Die frühesten Stadien einer Kalkeinlagerung lassen sich am aortalen und mitralen Annulus etwa ab 30. Lebensjahr, an der Aortenklappe ab 40. Lebensjahr und an der Mitralklappe ab 50. Lebensjahr histochemisch registrieren. Am mitralen Annulus treten Kalkablagerungen bei Frauen wesentlich früher auf (ab 30. Lebensjahr) als bei Männern (ab 50. Lebensjahr). Für die drei anderen untersuchten Regionen des Herzgerüsts ergeben sich bezüglich des Beginns der Kalkeinlagerungen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen. Parallel zur prozentualen Häufigkeit der Verkalkung am aortalen Annulus (Abb. 4) insgesamt zeigt dieser Anteil des Herzgerüsts auch ein häufigeres Vorkommen der Verkalkung in den Altersklassen zwischen 60—80 Lebensjahren als die übrigen Untersuchungsorte. Der Prozentsatz liegt in dieser Altersklasse bei 50% und steigt nach dem 80. Lebensjahr auf 80—100% an.

Im mitralen Annulus und in der Aortenklappe finden sich in 30—40% aller Fälle jenseits des 70. Lebensjahres Verkalkungen, in der Mitralklappe lediglich in etwa 15%.



Abb. 2. Ausgedehnte Verkalkung des Annulus fibrosus der Mitralklappe (S.-Nr. 1528/68; 91 Jahre alte Frau)

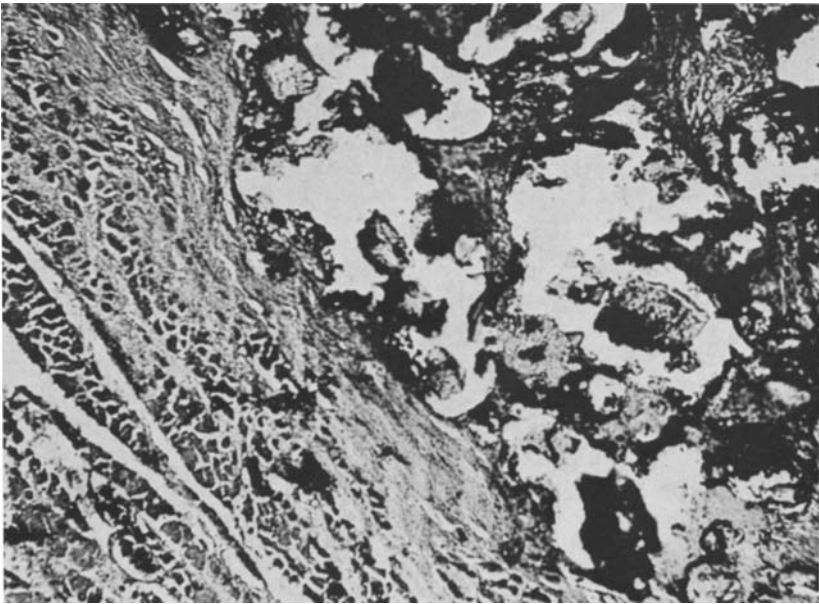


Abb. 3. Massive grobschollige Verkalkung des Annulus fibrosus der Mitralklappe (S.-Nr. 522/69, 71 Jahre alte Frau). Calciumnachweis nach Voigt, 1957. Vergr. 60fach



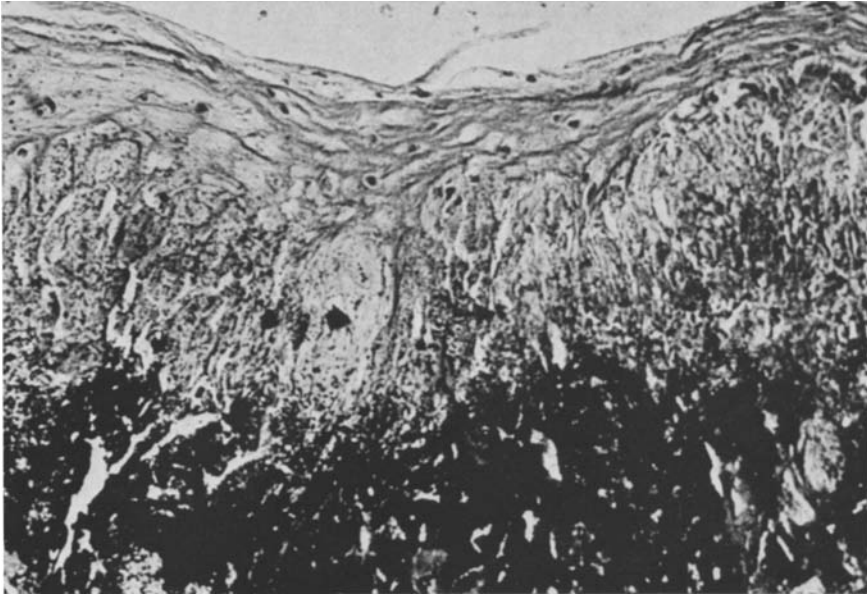


Abb. 4. Granuläre und grobschollige Verkalkung des Annulus fibrosus der Aortenklappe (S.-Nr. 819/69; 73 Jahre alter Mann). v. Kossa-Reaktion. Vergr. 160fach

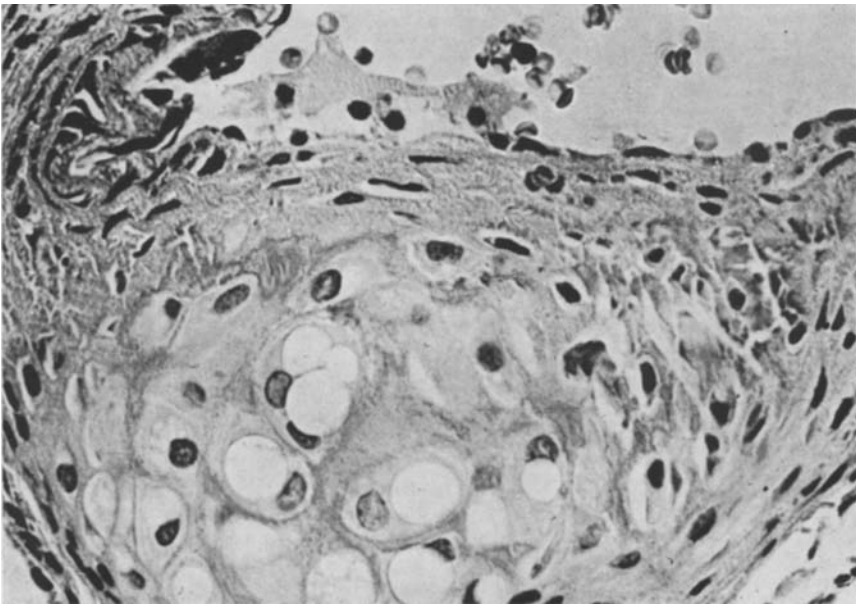


Abb. 5. Aortaler Annulus fibrosus der Ratte (Gruppe 1, 1 mg DHT, 4. Versuchstag): Schwellung der Endothelzellen und Fibroblasten; Zerfall und Kalkimprägnation elastischer Fasern (linke obere Bildhälfte); Kalkniederschläge zwischen den geschwollenen Knorpelzellen. Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 400fach

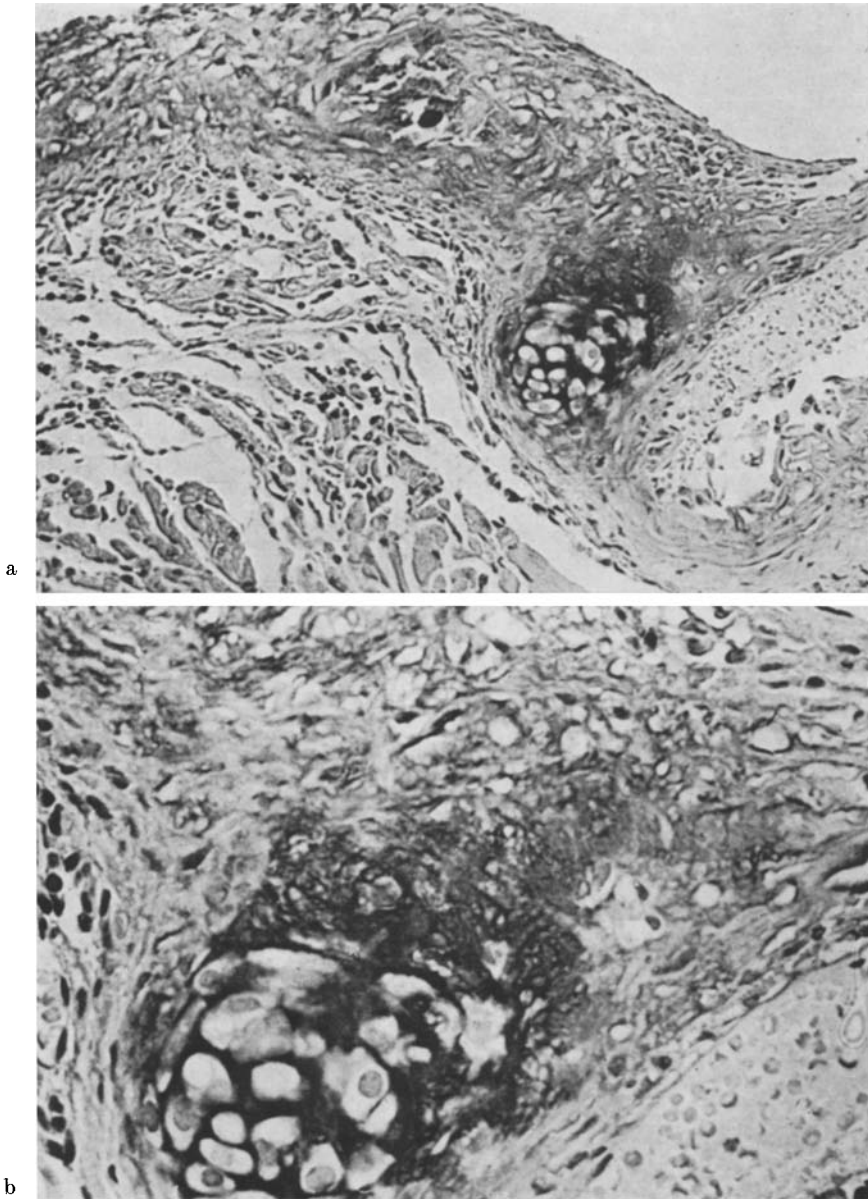


Abb. 6a u. b. Aortaler Annulus fibrosus der Ratte (Gruppe 2, 1 mg DHT und 10 mg Eisen-Dextran, 11. Versuchstag): Deutliche Vermehrung saurer Mucopolysaccharide (im Bild dunkel gefärbt); erhebliche Aktivierung des umliegenden Fasergewebes mit Zellschwellung und Aufquellung der Fasern. Astrablau. Vergr. 160 bzw. 400fach

## 2. Tierexperimentelle Befunde

Unter Hinweis auf Tabelle 6, in der die Versuchsergebnisse für die einzelnen Versuchsgruppen wiedergegeben sind, lassen sich folgende Gesetzmäßigkeiten des Verkalkungsprozesses am Herzgerüst der Ratte registrieren:

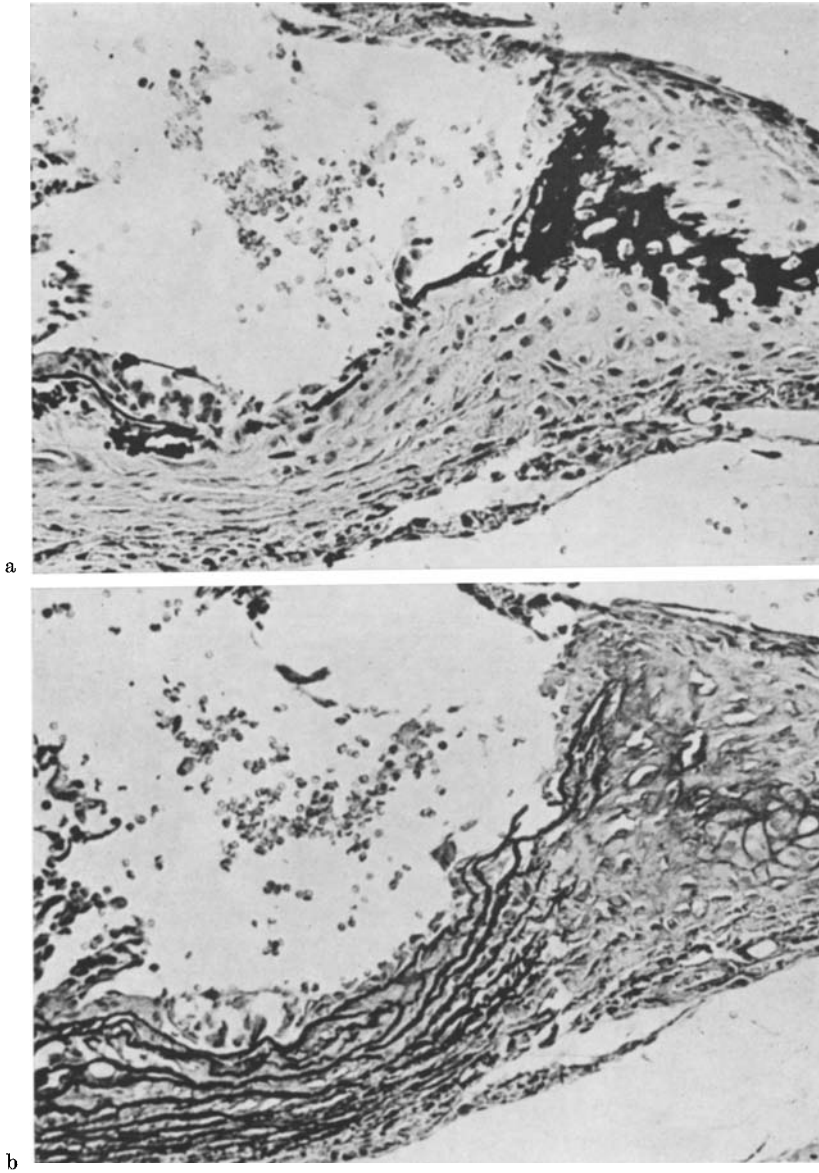


Abb. 7 a u. b. Aortaler Annulus fibrosus der Ratte (Gruppe 1, 1 mg DHT, 7. Versuchstag): Schollige Kalkablagerungen entlang elastischer Fasersysteme. v. Kossa-Reaktion (a) und Elastica (b). Vergr. 160fach

*Gruppe 1 (DHT).* Am *Annulus fibrosus* A1 (Annulusanteil der linken Taschenklappe der Aorta und des vorderen Mitralsegels) kommt es in den ersten drei Versuchstagen zu Veränderungen der Fibroblasten und Fasern. Die Fibroblasten zeigen eine Anschwellung mit Kernvergrößerung. Die kollagenen Fasern sind aufgequollen und unregelmäßig angeordnet. Die ersten Kalkablagerungen sind ab

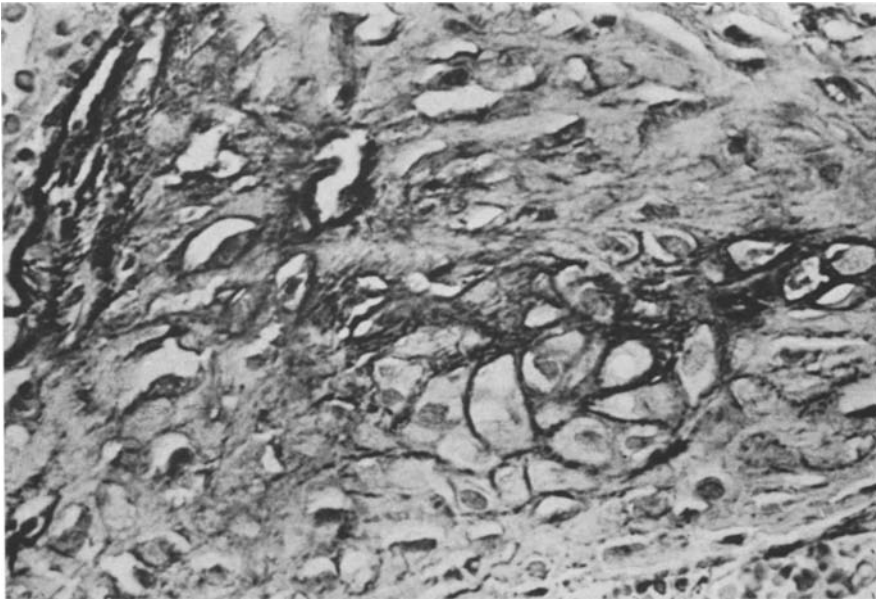


Abb. 8. Ausschnitt aus Abb. 7 b: Deutliche Kalkimprägnation elastischer Fasern des aortalen Annulus. Elastica. Vergr. 400fach

4. Versuchstag nachweisbar (Abb. 5), und zwar in der Grundsubstanz zwischen den Fibroblasten. Im weiteren Verlauf treten schollige Kalkablagerungen auch zwischen den geblähten Knorpelzellen auf. Die elastischen Fasern zeigen einen Zerfall in kleinere Bruchstücke und eine Imprägnierung mit Kalksalzen (Abb. 8). Die sauren Mucopolysaccharide sind in diesen Verkalkungszonen vermehrt nachweisbar (Abb. 6). Das stärkste Ausmaß der Verkalkung findet sich am 9. Versuchstag (Abb. 7).

An der *Aortenklappe* (AO) ergeben sich analoge Befunde. Initial kommt es zu einer Schwellung der Fibroblasten im Bereich der Lamina fibrosa (s. Abb. 1) und zu einer Auflockerung der kollagenen Fasern. Die Klappen sind besonders am Klappengrund (Sinus Valsalvae) ödematös verdickt und weisen eine verstärkte Einlagerung von Mucopolysacchariden auf. Die ersten Kalkablagerungen treten am 4. Versuchstag entlang der elastischen Fasern unter dem Endothel der Klappenoberfläche am Übergang zur Lamina fibrosa auf. Im weiteren Verlauf kommt es auch hier zu einem Zerfall der elastischen Fasern in Bruchstücke mit massiver Verkalkung, außerdem zu bandförmigen gerichteten Verkalkungen entlang den kollagenen Fasern der Lamina fibrosa. Das stärkste Ausmaß der Calcinose läßt sich am 9. Versuchstag beobachten.

Am *Annulus fibrosus A2* (Annulusansatz des hinteren Mitralsegels) treten ab 5. Versuchstag schollige Kalkablagerungen zwischen den kollagenen Fasern auf. Auch hier sind die sauren Mucopolysaccharide bereits vor den Kalkeinlagerungen vermehrt darstellbar. Die Verkalkung greift stellenweise auf die angrenzende Herzmuskulatur über (Abb. 9).

Tabelle 6. Übersicht über die Versuchsergebnisse in den verschiedenen Tiergruppen (s. auch Tabelle 1)

Gruppe (Medikation) Dauer	Sterblich- keit <sup>a</sup>	Vorkommen von Verkalkungen, bezogen auf die Zahl der Tiere <sup>b</sup>				
		A 0 <sup>c</sup>	A 1	M 1	M 2	A 2
1 (DHT) 2—17 Tage	5/20	4/14	6/14	2/12	2/11	8/11
2 a (DHT + FeDex) 9—17 Tage	1/10	3/9	4/9	3/9	2/9	5/9
3 a (DHT + CoCl <sub>2</sub> ) 2—17 Tage	4/20	0/17	2/17	0/17	0/17	3/17
4 a (DHT + MgCl <sub>2</sub> ) 4—15 Tage	6/19	1/11	7/15	0/13	0/13	9/16
5 a (DHT + MnCl <sub>2</sub> ) 4—10 Tage	14/19	1/14	2/14	0/14	0/14	2/15
6 a (DHT + Zn Act.) 4—15 Tage	6/18	0/11	0/12	0/12	0/12	0/12
7 (keine Med.) 14 Tage	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

<sup>a</sup> Zahl der verstorbenen Tiere/Gesamtzahl pro Versuchsgruppe.<sup>b</sup> Häufigkeit von Verkalkungen/Gesamtzahl der untersuchten Tiere pro Versuchsgruppe.<sup>c</sup> Abkürzungen s. Text und Abb. 1.

An der *Mitralklappe* (M1 = vorderes Mitralsegel, M2 = hinteres Mitralsegel) entsprechen die Veränderungen der Fibroblasten, Fasern und Mucopolysaccharide den anderen, bereits beschriebenen Gewebesorten. Die ersten Verkalkungen treten am vorderen Mitralsegel am 4. Versuchstag, am hinteren Mitralsegel erst am 7. Versuchstag auf. Am vorderen Mitralsegel sind zuerst die subendothelialen Fasern und die angrenzenden Fasern der Lamina fibrosa verkalkt. Dabei kommt es auch zu Kalkablagerungen am freien Klappenrand, während am hinteren Mitralsegel die Kalkherde bevorzugt nahe dem Ansatzrand lokalisiert sind.

*Gruppe 2 (DHT und Metallsalze).* Die Veränderungen bei gleichzeitiger Einwirkung von Metallsalzen entsprechen im Prinzip den Befunden, wie sie bei alleiniger Applikation von DHT beschrieben worden sind. Insbesondere finden sich in den Gruppen 2 (DHT und Eisen-Dextran) und 4 (DHT und Magnesiumchlorid) keine Unterschiede im Verkalkungsmuster zur Gruppe 1. In den Gruppen 3 (DHT und Kobaltchlorid), 5 (DHT und Manganchlorid) und 6 (DHT und Zinkacetat) läßt sich eine deutlich verminderte Kalkeinlagerung im Annulus fibrosus des hinteren Mitralsegels (A2 = mitraler Annulus) beobachten. Das Ergebnis wurde

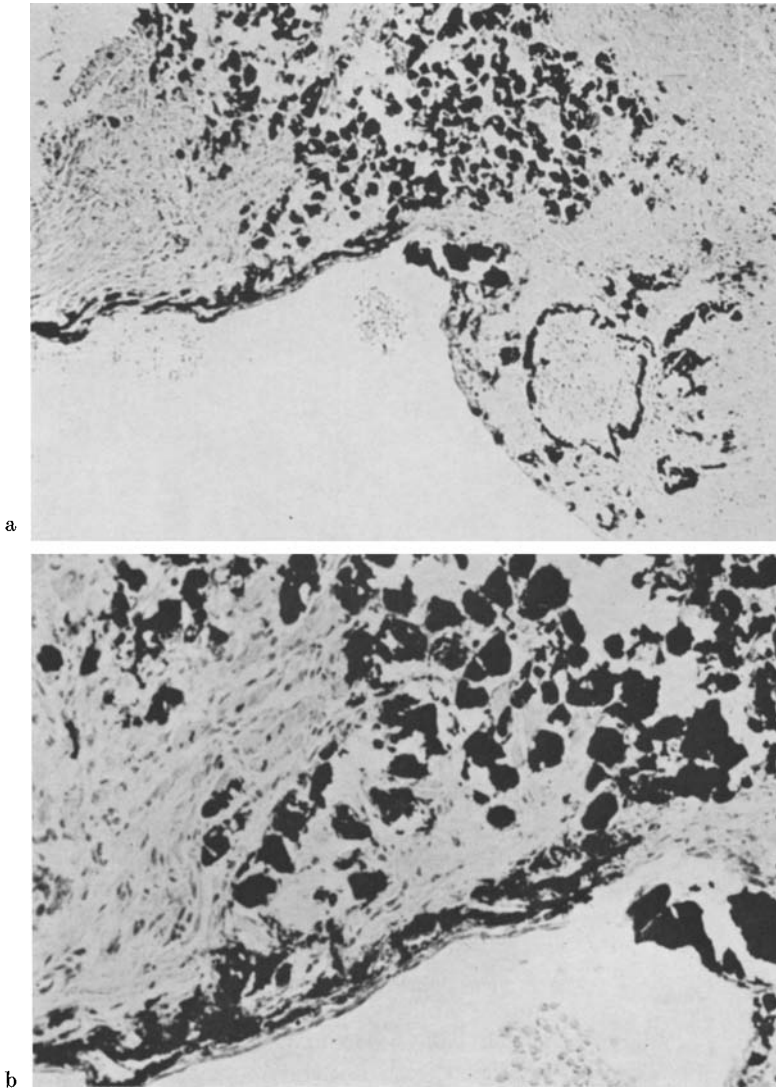


Abb. 9a u. b. Mitraler Annulus fibrosus der Ratte (Gruppe 1, 1 mg DHT, 9. Versuchstag): Grobschollige Kalkablagerungen mit Übergreifen auf die angrenzende Muskulatur. v. Kossa-Reaktion. Vergr. 60 bzw. 160fach

statistisch nach der Vierfeldertafel für Chi-Quadrat bei  $P=0,01$  ( $FG=1$ ) überprüft. Dabei ergibt sich eine eindeutige statistische Signifikanz.

Die alleinige Verabfolgung von Metallsalzen führt zu keinen Verkalkungsreaktionen.

*Gruppe 7 (Kontrollgruppe).* Ohne Einwirkung von DHT oder Metallsalzen lassen sich keine Verkalkungen am Herzgerüst registrieren. Das Klappengewebe weist histologisch einen regelrechten Aufbau auf.

### Diskussion

Die Verkalkung des Herzskeletes läßt sich unter den Begriff der Endokardose einordnen, worunter heterologe Endokardveränderungen zusammengefaßt werden, die durch verschiedene Stoffwechselstörungen ausgelöst werden (Doerr, 1970). Die Kalkablagerungen im Bindegewebe der Herzklappen und des Herzgerüsts sind allerdings kein isolierter Prozeß, sondern lediglich eine besondere Form der allgemeinen Alternsveränderungen des Bindegewebes. Zu dieser „Physiosklerose“ (Bürger, 1965) des Bindegewebes gehören einerseits die Abnahme der Zellzahl, des Wasser- und Mucopolysaccharidgehaltes, andererseits die Zunahme der Fibrillendicke, Gewebsdichte und der Lipoid- sowie Calciumeinlagerungen. Hieraus resultiert eine Herabsetzung der funktionellen Leistungsfähigkeit, besonders auch im Hinblick auf Verschieblichkeit und mechanische Belastbarkeit. Im Gegensatz zu den Alterungsprozessen des Bindegewebes des Herzskeletes (Gross und Kugel, 1931; Bürger und Lohmann, 1963; Beneke und Schmitt, 1967; u. a.) nimmt der Bindegewebsgehalt der Herzmuskulatur selbst mit dem Alter nicht zu, es sei denn, daß „eine Coronarsklerose von Krankheitswert“ besteht (Jansen, 1962 und 1967; Knieriem, 1964; Doerr, 1970).

Der Nachweis einer Gewebsverkalkung kann mit makroskopischen, histologischen, histochemischen und biochemischen Methoden erfolgen. Für den Ablauf der Calcifikation in verschiedenen Gefäßprovinzen haben die Arbeiten von Meyer (1971) mit einer kombinierten Untersuchungstechnik neuartige Aspekte erbracht. Die Aussagen über eine Verkalkung des Herzskeletes beruhen bei den früheren Untersuchungen vorwiegend auf makroskopischen Befunden (Mönckeberg, 1904; Dewitzky, 1910; Ribbert, 1924; Giese, 1932; Martens, 1932; Sosman und Wosika, 1933; Dry und Willius, 1939; Karsner und Koletzky, 1947; Geill, 1951; Sell und Scully, 1965; Dellling, 1967; u. a.). Mit der von uns angewandten Methode des histologischen und histochemischen Nachweises von Kalkablagerungen im Herzgerüst lassen sich eine Reihe von ergänzenden Feststellungen treffen. Unsere Ergebnisse bestätigen zugleich die Annahmen, daß „die Verkalkung des Herzskeletes wahrscheinlich häufiger ist, wenn nach ihr besonders gefahndet wird“ (Doerr, 1970).

Insgesamt finden sich im aortalen Annulus fibrosus Kalkablagerungen prozentual doppelt so häufig wie im mitralen Annulus. Die Kalkablagerungen im Bindegewebe der Herzklappen sind prozentual um 50 % niedriger bei einem Häufigkeitsvergleich mit dem Anulus, liegen jedoch auch an der Aortenklappe doppelt so hoch wie an der Mitralklappe. Die ersten, mikroskopisch erkennbaren Kalk-einlagerungen finden sich im Annulusgewebe bereits ab 30. Lebensjahr, in der Aortenklappe ab 40. Lebensjahr, in der Mitralklappe dagegen erst ab 50. Lebensjahr. Bei Frauen treten diese Veränderungen am mitralen Annulus 20 Jahre früher als bei Männern auf, während sich für die übrigen untersuchten Regionen des Herzgerüsts kein statistisch gesicherter Signifikanzunterschied zwischen Männern und Frauen bezüglich des Beginns der Kalkeinlagerungen ergibt. Es läßt sich dagegen eine eindeutige Geschlechtsdisposition insofern erkennen, als Verkalkungen des mitralen Annulus und auch der Mitralklappe bei Frauen häufiger vorkommen, und zwar bei Erfassung besonders der stärkeren grobscholligen Verkalkungen durchschnittlich 3—4mal häufiger. Mit höherem Lebensalter nimmt die Häufigkeit der Kalkeinlagerung zu und steigt nach dem 80. Lebensjahr am aortalen Annulus auf Werte von 80—100 % an. Für den mitralen Annulus und die

Aortenklappe liegen die Prozentzahlen bei maximal 30—40 %, für die Mitralklappe nur bei 15 %.

Aus diesen Unterschieden in der Häufigkeit, Lokalisation und Geschlechtsverteilung geht hervor, daß neben allgemeinen Ursachen, die mit dem Alterungsprozeß des Herzbindegewebes im Zusammenhang stehen, zusätzliche lokale und auch blutchemische Faktoren Bedeutung für den Verkalkungsprozeß besitzen. Die häufigere Lokalisation am aortalen gegenüber dem mitralen Annulus fibrosus und der gleiche Intensitätsunterschied zwischen Aorten- und Mitralklappe spricht für die Rolle mechanischer Momente. Synchron mit der Herzaktion kommt es zu Druck- und Zugeinwirkungen auf die Herzklappen und ihre Befestigungsråder am Annulus fibrosus, die naturgemäß auf Grund der Hämodynamik (höherer Druckanprall des Blutstromes und stärkeres Rückstoßphänomen) im Aortenklappenbereich wirksamer werden als an der Mitralklappe. Die daraus resultierenden Alterationen des Bindegewebes beschleunigen den physiologischen Alterungsprozeß des Klappenapparates (Sell und Scully, 1965; Sheehan und Sutherland, 1939; Beneke und Schmitt, 1967; u. a.), insbesondere auch die höhere Vernetzung der Kollagenmoleküle und die Entmischung der mucopolysaccharidhaltigen interfibrillären Grundsubstanz (Lindner und Eckstein, 1963; Junge-Hülsing und Wagner, 1968).

Der Alterungsprozeß des Herzbindegewebes und die lokalen mechanisch-physikalischen Faktoren reichen jedoch nicht aus, um die bei der Herzgerüstverkalkung beobachteten Unterschiede in der Geschlechtsdisposition zu erklären. Dies gilt besonders für die frühzeitigere und stärkere Calcinose des mitralen Annulus und der Mitralklappe bei Frauen. Die bisher aufgestellten Hypothesen umfassen eine Fülle von ätiologischen Momenten, so hormonale Dysregulationen, Änderungen im Calciumstoffwechsel oder Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Neue Aspekte ergeben sich in diesem Zusammenhang aus dem heuristischen Prinzip der Calciphylaxie von Selye (1962) und seiner Anwendung auf Probleme der extraossären Gewebsverkalkung (Seifert, 1968, 1970; Seifert und Junge-Hülsing, 1966; Gerlach und Themann, 1965; u. a.). Bei der Calciphylaxie wird die Reaktionsweise eines Gewebes durch bestimmte Substanzen in einer kritischen Zeitperiode derart verändert, daß es je nach Applikationsort, Substanz und kritischer Zeitperiode zur Verkalkung bestimmter Rezeptorgewebe kommt. Das pathogenetische Prinzip besteht darin, daß eine den Calciumstoffwechsel mobilisierende Substanz — z. B. Dihydrotachysterin als „Sensitizer“ — eine Hypercalciämie und Hyperphosphatämie sowie eine Stoffwechselaktivierung und Permeabilitätssteigerung auslöst. Die zusätzliche Verabfolgung von „Challenger“ (Metallsalze, Eißweißkörper, u. a.) führt zur Haftung dieser „Challenger“ an Faserstrukturen sowie Mucopolysacchariden und im weiteren Verlauf zum Austausch des „Challenger“ mit endogenen Calciumionen. Dieser calciphylaktische Prozeß kann durch Hypophysektomie, Calcium- und Phosphormangel in der Nahrung, anabole Steroide, Pyrophosphat und bestimmte Metallverbindungen (Mangan-, Zink-, Kobaltsalze) verhindert oder gebremst werden.

Bei der von uns gewählten Versuchsanordnung der Calciphylaxie nach Selye (1962) ließen sich am Herzgerüst und den Herzklappen der Ratte ähnliche Verkalkungsprozesse wie am menschlichen Herzen beobachten. Der Ablauf der calciphylaktischen Reaktion ermöglicht zugleich auch eine Deutung der Patho-



genese in der Herzgerüstverkalkung beim Menschen. Die initialen Veränderungen bestehen in einer Änderung der Struktur des Bindegewebes als morphologischem Substrat eines veränderten Stoffwechsels. In den ersten Versuchstagen finden sich Schwellungen der Fibroblasten, Quellungen der kollagenen Fasern und Auflösungen der elastischen Fasern mit einem Zerfall in einzelne Bruchstücke. Parallel hiermit geht eine Vermehrung saurer Mucopolysaccharide. Feingranuläre Kalkablagerungen treten entlang den elastischen Fasern und in der Grundsubstanz zwischen den kollagenen Fasern der Lamina fibrosa ab 4. Versuchstag auf. Die Kalk-einlagerungen nehmen bis zum 9. Versuchstag weiter zu und greifen auch auf die angrenzende Herzmuskulatur über. Ähnlich wie bei der experimentellen calci-phylaktischen Arteriopathie (Drescher, 1969; Seifert und Dulawa, 1969) lassen sich die Calcifikationen durch gleichzeitige Gaben von Metallsalzen (besonders Manganchlorid und Zinkacetat) vermindern. Dies gilt besonders für die Kalkeinlagerungen im mitralen Annulus fibrosus. Ein Vergleich der tierexperimentellen Befunde mit den Beobachtungen am menschlichen Herzgerüst ergibt weitgehende Parallelen bezüglich der Lokalisation der Kalkablagerungen. Dies unterstreicht die Hypothese, daß hierbei lokale mechanisch-physikalische Faktoren (Druckbelastung) eine wichtige Rolle spielen. Die Möglichkeit, die Herzgerüstealcinose durch Einwirkung von Metallsalzen zu reduzieren, zeigt jedoch zugleich, daß übergeordnete blutchemische Faktoren die örtliche Verkalkungsreaktion entscheidend beeinflussen können. Für den Ablauf der Herzgerüst- und Klappenverkalkung beim Menschen ergeben sich dabei zwei verschiedene pathogenetische Mechanismen. Einerseits läßt sich die besondere Disposition des weiblichen Geschlechtes zu einer vorzeitigen und verstärkten Calcinose bestimmter Anteile des Herzgerüstes auf die hormonale Umstellung besonders nach dem Klimakterium zurückführen, zumal bekannt ist, daß Östrogene und Androgene in mannigfacher Weise den Stoffwechsel und die Struktur des Bindegewebes beeinflussen. Zum anderen muß nach Selye (1962) diskutiert werden, daß im Alter ein gestörter Calciumstoffwechsel vorliegt, der mit einer Demineralisation des Skeletes und einer verstärkten extraossären Calcinose verbunden ist. Der im höheren Alter veränderte Aufbau und Stoffwechsel des Bindegewebes im Bereich des Herzskeletes wäre dann das Terrain, auf dem übergeordnete hormonale Faktoren oder Störungen des Elektrolytstoffwechsels wirksam werden können.

### Literatur

- Bargmann, W., Doerr, W.: Das Herz des Menschen. Stuttgart: Thieme 1963.  
Beneke, G., Schmitt, H.: Altersveränderungen am Klappenapparat des menschlichen Herzens. Verh. dtsch. Ges. Path. **51**, 209—214 (1967).  
Bürger, M.: Altern und Krankheit als Problem der Biomorphose. Leipzig 1965.  
— Lohmann, D.: Lebenswandlungen (Biomorphose) des gesunden menschlichen Herzens in ihren Beziehungen zum Alter und Geschlecht. In: W. Bargmann und W. Doerr, Das Herz des Menschen, Bd. I, S. 412—421. Stuttgart: Thieme 1963.  
Delling, G.: Mineralstoffwechsel und extraossäre Gewebescalcinosen im Obduktionsgut des Pathologischen Institutes der Universität Hamburg (1960—1965). Inaug. Diss. Hamburg 1967.  
Dewitzky, W.: Über den Bau und die Entstehung verschiedener Formen der chronischen Veränderungen der Herzklappen. Virchows Arch. path. Anat. **199**, 273—377 (1910).  
Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen, 6. Aufl. Basel: Geigy 1960.  
Doerr, W.: Allgemeine Pathologie der Organe des Kreislaufes. In: Handbuch der Allgemeinen Pathologie, Bd. III/4, S. 205—755. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970.

- Drescher, S.: Zur Hemmwirkung von Metallsalzen auf die experimentelle Gefäßcalcinose. *Beitr. path. Anat.* **138**, 74—92 (1969).
- Dry, T. J., Willius, F. A.: Calcareous disease of the aortic valve, a study of two hundred twenty-eight cases. *Amer. Heart J.* **17**, 138—157 (1939).
- Epstein, B.: Comparative study of valvular calcification in rheumatic and nonrheumatic heart disease. *Arch. Intern. Med.* **65**, 279—290 (1940).
- Geill, T.: Calcification of the left annulus fibrosus. *J. Geront.* **6**, 327—333 (1951).
- Gerlach, U., Themann, H.: Experimentelle und klinische Untersuchungen über die Calcifizierungen von Geweben. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **71**, 520—521 (1965).
- Giese, W.: Die Verkalkungen des Herzskeletts. *Beitr. path. Anat.* **89**, 16—39 (1932).
- Gross, L., Kugel, M.: Topographic anatomy and histology of the valves in the human heart. *Amer. J. Path.* **7**, 445—474 (1931).
- Jansen, H. H.: Über den Bindegewebsgehalt des Herzmuskels. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **46**, 262—265 (1962).
- Quantitative Bindegewebsverhältnisse in den Kammerwänden insuffizienter Herzen, dargestellt am Beispiel der Hydroxyprolinbestimmung. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **51**, 199—202 (1967).
- Junge-Hülsing, G., Wagner, H.: Altern und Bindegewebe. *Z. Geront.* **1**, 345—359 (1968).
- Karsner, H. T., Koletsky, S.: Calcific disease of the aortic valve. Philadelphia: Lippincott 1947.
- Knieriem, H.-J.: Über den Bindegewebsgehalt des Herzmuskels des Menschen. *Arch. Kreisf. Forsch.* **44**, 231—259 (1964).
- Lindner, J., Eckstein, M.: Die Histochemie der atherosklerotischen Verkalkung. *Acta histochem. (Jena)*, Suppl. **III**, 89—97 (1963).
- Martens, G.: Beziehungen zwischen der Verkalkung des Annulus fibrosus der Mitralklappen und anderen regressiven Erscheinungen. *Beitr. path. Anat.* **90**, 497—502 (1932).
- Meyer, W. W.: Arterien calcinosen. Beziehungen zum Gefäßwachstum und prospektive Bedeutung. *Dtsch. med. Wschr.* **96**, 1093—1098 (1971).
- Mönkeberg, J. G.: Der normale histologische Bau und die Skleose der Aortenklappen. *Virchows Arch. path. Anat.* **176**, 472—514 (1904).
- Ribbert, H.: Die Atherosklerose der Klappen und des Wandendocards. In: F. Henke und O. Lubarsch, *Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie*, Bd. **II**, 1. Aufl. Berlin: Springer 1924.
- Riesner, K.: Untersuchungen zur Verkalkung des Herzgerüsts. Tierexperimentelle Studien und Befunderhebungen am Sektionsmaterial. Inaug. Diss. Hamburg 1970.
- Seifert, G.: Pathologie der extraossären Gewebsverkalkungen. *Ärzt. Prax.* **20**, 539 und 555—559 (1968).
- Morphologic and biochemical aspects of experimental extraosseous tissue calcification. *Clin. Orthop.* **69**, 146—158 (1970).
- Dulawa, A. G.: Zur Hemmung von Phosphatverbindungen auf die experimentelle Gefäßcalcinose. *Beitr. path. Anat.* **139**, 59—73 (1966).
- Junge-Hülsing, G.: Morphologische Aspekte bei extraossären Verkalkungsvorgängen. *Rheumatismus*, Bd. **38**, S. 34—39. Darmstadt: Steinkopff 1966.
- Sell, S., Scully, R. E.: Aging changes in the aortic and mitral valves. *Amer. J. Path.* **46**, 345—365 (1965).
- Selye, H.: *Calciphylaxis*. Chicago: Chicago University Press: 1962.
- Sheehan, H. L., Sutherland, A. M.: Sex and age factors in acute and chronic valvular disease. *Brit. Heart J.* **1**, 303—324 (1939).
- Sosman, M. C., Wosika, P. H.: Calcification in aortic and mitral valves of twenty-three cases demonstrated in vivo by Roentgen ray. *Amer. J. Roentgenol.* **30**, 328—348 (1933).
- Voigt, G. E.: Ein neuer histochemischer Nachweis des Calciums (mit Naphthalhydroxamsäure). *Acta histochem. (Jena)* **4**, 122—131 (1957).

Prof. Dr. G. Seifert  
Dr. med. K. Riesner  
Pathologisches Institut der Universität  
D-2000 Hamburg 20, Martinistraße 52  
Deutschland