

Enzyminduktion bei Mediaverfettung menschlicher Coronararterien Enzymhistochemische Untersuchungen

K.-H. Bründel

Pathologisches Institut der Universität Göttingen, Abteilung für experimentelle Pathologie
(Prof. Dr. D. Sinapius)

Eingegangen am 30. April 1972

Enzyme-Induction in Fat-Filled Medial Smooth Muscle Cells of Human Coronary Arteries

Enzyme-Histochemical Investigations

Summary. Activities of nonspecific esterase, lipase, nonspecific alkaline phosphatase, acid phosphatase, lactic dehydrogenase, succinic dehydrogenase, NADH₂- and NADPH₂-diaphorases and ATP-monophosphatase were investigated enzymhistochemically in fat-filled smooth muscle cells of the media and in lipid accumulation in the extracellular space of human coronary arteries in atherosclerosis. Increased activity was shown by esterase, acid phosphatase, LDH, SDH, diaphorases in intracellular lipid-accumulation. ATP-ase was reduced or not present in lipid-filled smooth muscle cells. The activities of the enzymes mentioned above was not influenced by extracellular sudanophilic droplets except acid phosphatase. Activity of acid phosphatase was decreased or totally absent in regions with extracellular lipid-accumulation. The increase of reaction products in cases of intracellular lipid-accumulation is interpreted as enzyme-induction by increased substrate available. Intracellular ceroid, histochemically demonstrable in fat-filled smooth muscle cells, is indicative of lipid metabolism (e.g., polymerisation of fatty acids).

Zusammenfassung. Die Aktivitäten der unspezifischen Esterase, Lipase, alkalischen und sauren Phosphatase, der LDH, SDH, NADH₂- und NADPH₂-Diaphorasen und der ATP-ase wurden im Bereich cellulärer und extracellulärer Mediaverfettung bei menschlicher Coronararteriensklerose enzymhistochemisch untersucht. Bei cellulärer Mediaverfettung ist die Aktivität der Esterase, sauren Phosphatase, LDH, SDH und der Diaphorasen vermehrt, die der ATP-ase dagegen vermindert oder vollkommen aufgehoben.

Durch extracelluläre Verfettung ist die Aktivität dieser Enzyme mit Ausnahme der sauren Phosphatase, deren Aktivität vollständig schwindet, nicht beeinflußt.

Lipase und alkalische Phosphatase sind weder in der normalen Media noch bei cellulärer oder extracellulärer Mediaverfettung nachweisbar. Die Zunahme der Reaktionsprodukte bei cellulärer Mediaverfettung wird als Enzyminduktion durch gesteigertes Substratangebot gedeutet. Als Produkt der Fettverarbeitung läßt sich histochemisch intracelluläres Ceroid in den verfetteten glatten Muskelzellen der Media nachweisen.

Fettablagerungen bei Atherosklerose beschränken sich nicht auf die Intima, sondern dehnen sich oft auch auf die Media aus (Adams, 1967; Sinapius, 1964; Wissler, 1968; Wolkoff, 1929). Sie sind als Tropfen unterschiedlicher Größe in glatten Muskelzellen und — oder — extracellulär lokalisiert. Histochemisch stimmen sie mit den Lipiden der Intima überein, bestehen also vorwiegend aus Cholesterin, Cholesterinestern und Phosphatiden, vor allem Sphingomyelinen

(Sinapius et al., 1964). Die zelluläre Verfettung ist als Speicherung von Lipiden gedeutet worden, die aus der Intima durch die Media nach der Adventitia hin abtransportiert werden (Sinapius et al., 1964; Wolkoff, 1929).

Wir haben festzustellen versucht, ob es zu einer induktiven Steigerung von Enzymaktivitäten kommt, wie sie für die entsprechenden Intimazellen bereits bekannt ist (Müller et al., 1959; Saudek et al., 1966; Sinapius, 1964) und ob die wechselnde Neigung zur cellulären und extracellulären Ansammlung von Fett mit örtlichen Unterschieden der Enzymaktivität zusammenhängt. Darüber hinaus wurde geprüft, ob außerhalb der Verfettungsherde, also im Bereich der „normalen“ Media Enzymaktivitätsunterschiede bestehen. Diese Frage ist von aktueller Bedeutung, weil Adams (1967) neuerdings Intimaverfettungen und die angebliche Beschränkung der Mediaverfettung auf das innere Drittel der Media auf eine „Enzymschwäche“ in diesem Gefäßabschnitt zurückführt.

Untersuchungsgut und Methode

Es wurden 13 extramurale Coronararterienäste unfixiert in 3 mm dicke Scheiben lamelliert. Anschließend wurden von nicht verkalkten Scheiben mit atherosklerotischen Herden 12 µ messende Kryostatschnitte (-30°C) angefertigt, bei Raumtemperatur getrocknet und nach 60—120 min die nachfolgenden Enzymreaktionen ausgeführt. Es wurde jeweils ein Schnitt 15 min in 4% Formol fixiert und mit Fettrot gefärbt, um den Verfettungstyp zu klassifizieren.

Enzymreaktionen

1. Hydrolytische Enzyme:

unspezifische Esterase	(EC 3.1.1.1.) nach Pearse
Lipase	(EC 3.1.1.3.) nach Gomori
alkalische Phosphatase	(EC 3.1.3.1.) nach Pearse
saure Phosphatase	(EC 3.1.3.2.) nach Pearse
ATP-ase	(EC 3.6.1.3.) nach Wachstein und Meisel in der Modifikation von Hori und Chang

2. Oxidoreduktasen:

Laktatdehydrogenase	(EC 1.1.1.27) nach Pearse mit PMS/ohne PMS
Succinodehydrogenase	(EC 1.3.99.1.) nach Goebel und Puchtler mit PMS/ohne PMS
NADH ₂ -TR (Diaphorase)	(EC 1.6.4.3.) nach Pearse mit PMS/ohne PMS
NADPH ₂ -TR (Diaphorase)	nach Pearse mit PMS/ohne PMS

Untersuchung der Esterase, Lactatdehydrogenase und der Diaphorasen nach 20, 40 und 60 min. Extraktion der Schnitte in 4° C kaltem Aceton. Differenzierung der LDH-Isoenzyme durch Zusatz von 2,5 ml einer 4 m Harnstofflösung zum Inkubationsmedium. Differenzierung der Isoenzyme der sauren Phosphatase durch Zusatz von 2 ml einer 0,2 m Tartratlösung zum Inkubationsmedium. Kontrollen der Enzymreaktionen erfolgten durch Weglassen des Substrates.

Tabelle 1

Enzymreaktionen	Normale Media	Celluläre Media-verfettung	Extracelluläre Media-verfettung
1. Hydrolytische Enzyme			
unspezifische Esterase	+	+++	+ - Ø
Lipase	Ø	Ø	Ø
alkalische Phosphatase	Ø	Ø	Ø
sauere Phosphatase	+	+++	Ø
ATP-ase	+	Ø	+
2. Oxidoreduktasen:			
Lactatdehydrogenase	+	+++	+
Succinodehydrogenase	+	++	+
NADH ₂ -TR Reductase (Diaphorase)	+	++	+ - Ø
NADPH ₂ TR Reductase (Diaphorase)	+	+++	+

Ø = fehlende Reaktionsprodukte, + = normale Anzahl von Reaktionsprodukten, ++ = vermehrte Anzahl von Reaktionsprodukten, +++ = stark vermehrte Anzahl von Reaktionsprodukten.

Ergebnisse

Unspezifische Esterase. In den normalen Muskelzellen der Media sind meist vier runde, in der Zellmitte oder an den Zellpolen lokalisierte Reaktionsprodukte (Rp) nachweisbar. Das Enzym ist in allen Mediaabschnitten gleichmäßig nachweisbar. Die Aktivität nimmt bei cellulärer Verfettung deutlich zu, bei extracellulärer ist sie vermindert oder fehlt manchmal ganz. Gehen verfettete Muskelzellen zugrunde, dann sieht man im extracellulären Raum vermehrt Reaktionsprodukte. Nach Acetonextraktion geht die Körnchenform der Rp weitgehend verloren, doch findet man auch noch nach 60 min Extraktionsdauer einige Körnchen.

Alkalische Phosphatase. Sie fehlt in glatten Muskelzellen der Media, ist dagegen in Endothelien und ausgeprägt in Fibrocyten der Adventitia nachweisbar. Das Enzym findet sich viermal an der Intima-Mediagrenze unter stark verdickter Intima.

Saure Phosphatase. Die Aktivität der sauren Phosphatase ist kräftig in Intimazellen und Bindegewebsszellen der Adventitia, etwas geringer in glatten Muskelzellen der Media ausgeprägt. Die Rp sind unterschiedlich groß und liegen überwiegend in der Zellmitte, entweder hintereinander oder kreisförmig oder in kleinen Gruppen an den Zellpolen. Bei cellulärer Verfettung steigt die Aktivität deutlich an, bei extracellulärer Verfettung fehlt sie ganz. Manchmal ist sie in der Media auch ohne Zuordnung zu einem Verfettungstyp nicht nachweisbar. Die Aktivität der sauren Phosphatase in den Muskelzellen der Media ist im Vergleich zur Aktivität dieses Enzyms in der Adventitia durch Tartrat hemmbar. Auch dieses Enzym findet sich im extracellulären Raum, wenn verfettete Muskelzellen zugrunde gehen.

ATP-ase. In der normalen Media ist die Aktivität der ATP-ase herdförmig unterschiedlich. Sie fehlt in verfetteten Muskelzellen der Media.

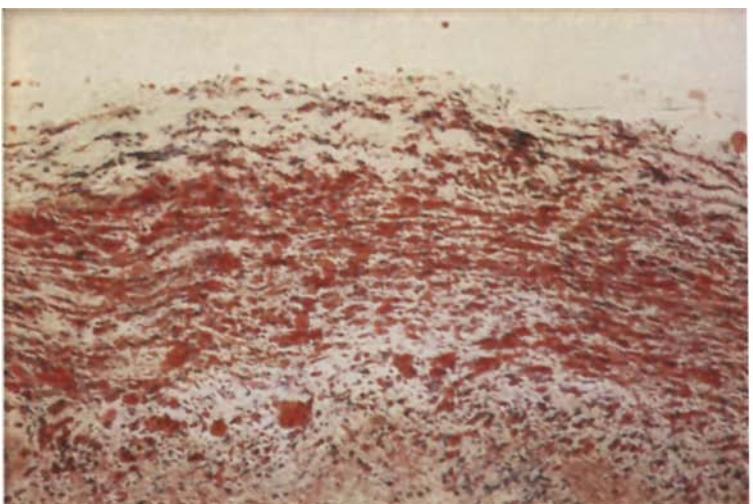


Abb. 1

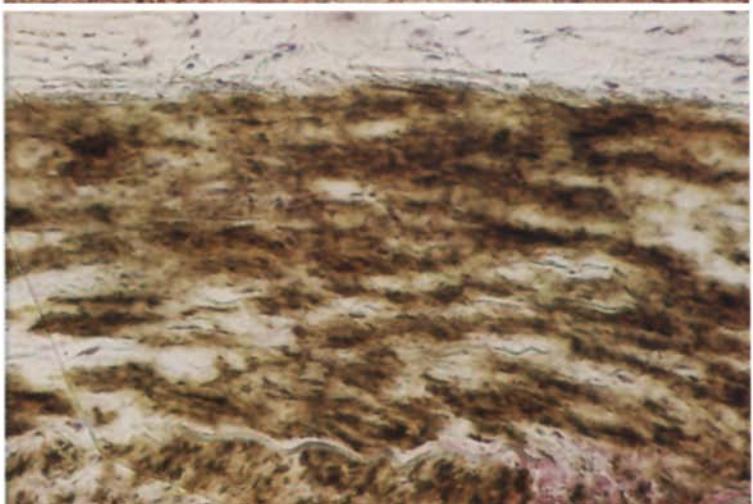


Abb. 3

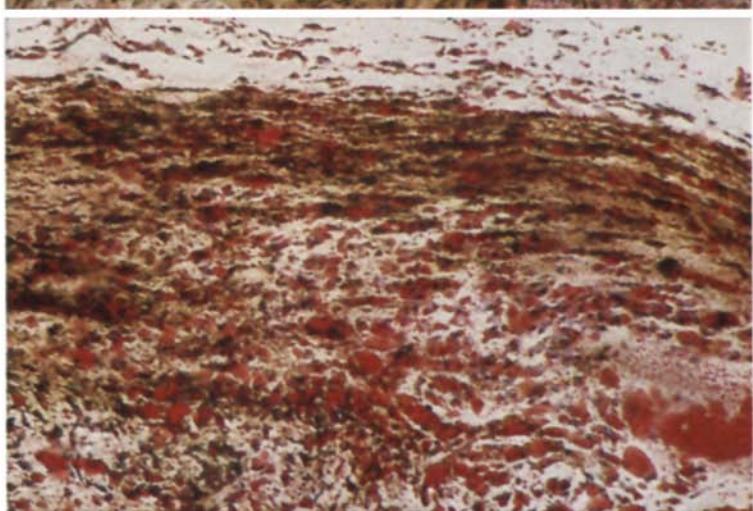


Abb. 4

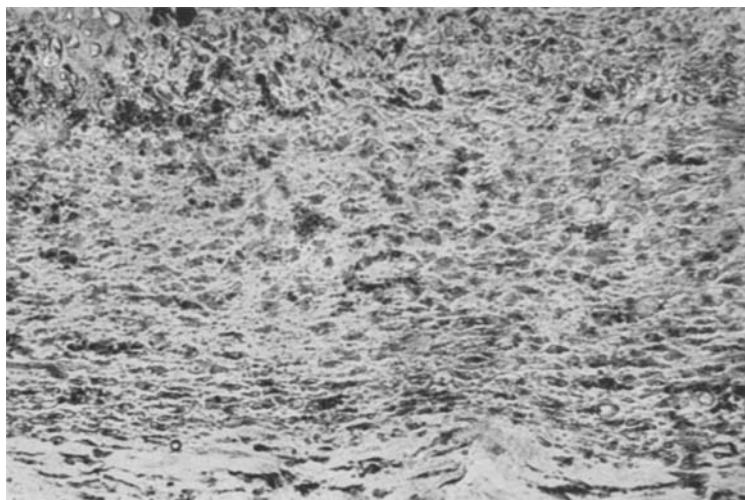


Abb. 2. Aktivitätszunahme der sauren Phosphatase bei cellulärer Mediaverfettung. 12, 5×16

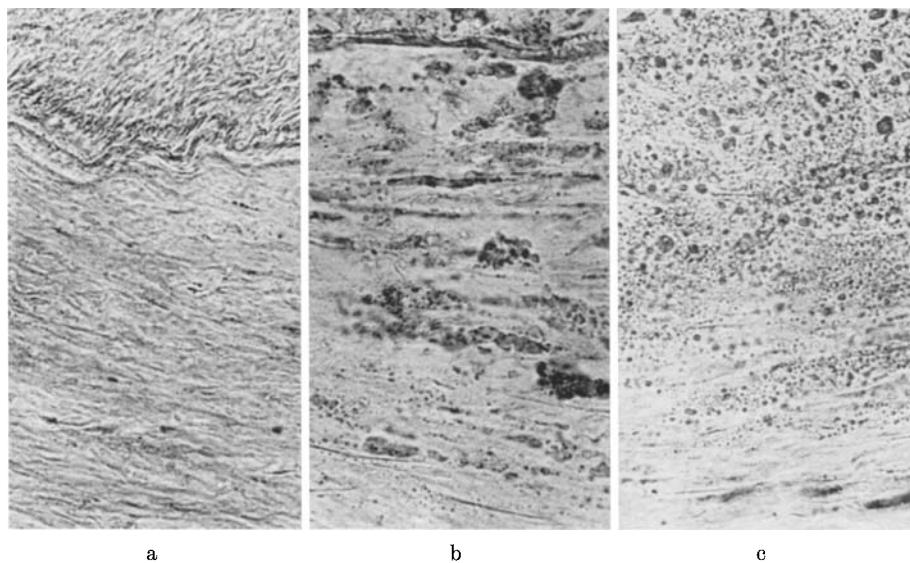


Abb. 5. a Esteraseaktivität in der normalen Media: bis vier runde Reaktionsprodukte pro Zelle. b Deutliche Zunahme der Reaktionsprodukte bei cellulärer Mediaverfettung. c Fehlende Esteraseaktivität bei fein- bis mitteltropfiger extracellulärer Mediaverfettung

Abb. 1. Celluläre Mediaverfettung in der ganzen Schichtdicke. Fettrot 7B; 12, 5×16

Abb. 3. Kräftige Reaktion der ATP-ase der glatten Muskelzellen der Media mit herdförmig unterschiedlicher Intensität. 12, 5×16

Abb. 4. Fehlende Aktivität der ATP-ase in verfetteten Zellen. Kombinierte ATP-ase-Fettrot 7B Darstellung. 12, 5×16



Abb. 6. Extracelluläre Mediaverfettung im inneren Mediadrittel. Fettrot 7B; 12, 5×25

Oxidoreduktasen. Die Aktivität der Oxidoreduktasen ist bei cellulärer Verfettung vermehrt, bei extracellulärer dagegen unverändert. Die SDH ist durch Phenazinmethosulfat deutlicher nachweisbar. LDH ist durch Harnstoff in den Mediazellen hemmbar. Nach Acetonextraktion rücken die runden Rp dichter zusammen, erscheinen verklumpt und bilden netzige Strukturen um herausgelöste Fetttropfen. Doch auch nach einstündigiger Extraktionsdauer sind gelegentlich noch Verteilungsmuster wie an nicht extrahierten Schnitten zu erkennen.

Diaphorrasen. Die Aktivität beider Diaphorrasen ist bei cellulärer Verfettung gesteigert. Die Rp sind rund, an den Zellgrenzen und gelegentlich perinuklear ähnlich der LDH lokalisiert. Bei extracellulärer Verfettung nimmt die Aktivität der NADH₂-TR-Reduktase ab oder fehlt. Die Befunde bei Acetonextraktion entsprechen denen der LDH.

Verwendete Reagentien

Naphthylacetat, Na-L-Lactat, Tween 85, Phenazinmethosulfat und Fast Red Violet LB Salt von der Fa. Serva, Heidelberg. Echtrot-TR, Naphthol-AS-BI-Phosphat, Naphthol-AS-MX-Phosphat und Nitro-BT von Dr. Harms, Leverkusen. Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat, Nicotinamid-adenin-dinucleotid und Adenosin-5-triphosphat von der Fa. Boehringer, Mannheim.

Diskussion

In Übereinstimmung mit anderen Autoren ließen sich in den normalen glatten Muskelzellen der Media Aktivitäten der unspezifischen Esterase, sauren Phosphatase, Lactatdehydrogenase sowie der NADH₂-Tetrazolium-Reduktase, NADPH₂-Tetrazolium-Reduktase und ATP-ase nachweisen (Adams, 1967;

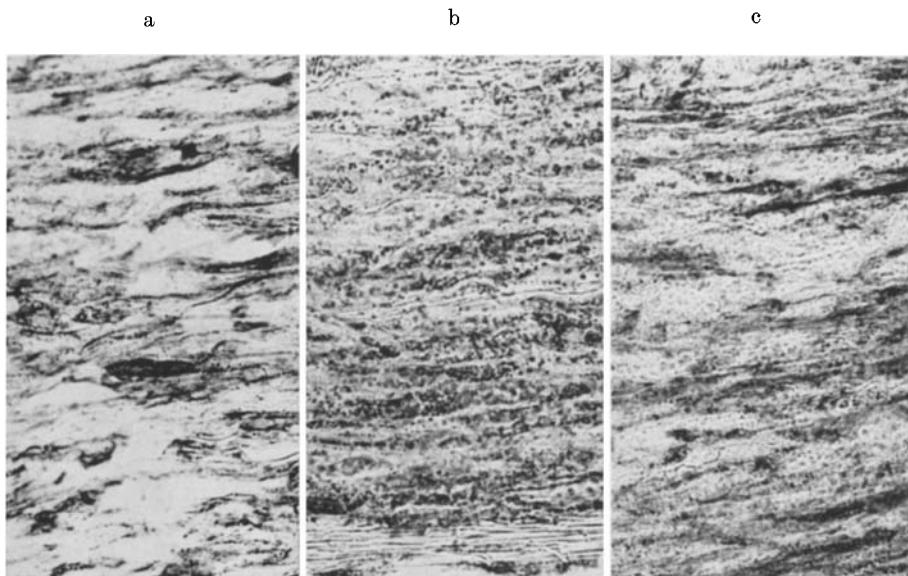


Abb. 7

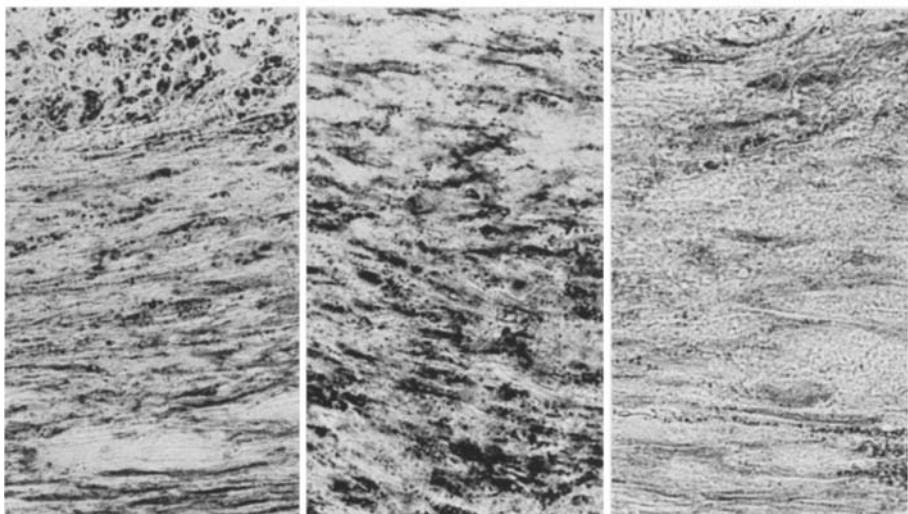


Abb. 8

Abb. 7. a Gleichmäßige kräftige Reaktion der LDH in allen glatten Muskelzellen. Pro Zelle 15—20 Reaktionsprodukte. 12, 5×25. b Intensive Zunahme der LDH-Aktivität bei cellulärer Mediaverfettung. 12, 5×25. c Keine Beeinflussung der LDH bei feindisperser extracellulärer Verfettung. 12, 5×25

Abb. 8. a Gleichmäßige Aktivität der NADPH₂-Diaphorase in allen Muskelzellen. 12, 5×25. b Zunahme der Aktivität der NADPH₂-Diaphorase bei cellulärer Verfettung. 12, 5×25. c Normale Aktivität in glatten Muskelzellen der Media im Bereich feintropfiger extracellulärer Verfettung. 12, 5×25

Diezel, 1966; Hess et al., 1963; Leites, 1963; Somlyo et al., 1968; Zemplenyi, 1962; Zemplenyi et al., 1959) (s. Abb. 5a, 7a, 8a, 3). Enzyminhibition der LDH und sauren Phosphatase deutet darauf hin, daß es sich bei der Lactatdehydrogenase um den M-Typ handelt und daß von den sauren Phosphatasen der Prostatatyp in den glatten Muskelzellen vorkommt.

Die einzelnen Reaktionen unterschieden sich voneinander durch die Intensität des Enzymnachweises sowie eine unterschiedliche Größe der Reaktionsprodukte. Die kräftige Aktivität der NADPH₂-TR und der LDH deuten an, daß die Energie in der Arterienwand vorwiegend durch anaerobe Glykolyse bereitgestellt wird (Rudolph et al., 1966; Somlyo et al., 1968). Die Abnahme der NADH₂-TR und die Zunahme der LDH sind altersabhängig (Somlyo et al., 1968).

Bei der Untersuchung der ATP-ase fanden wir auch in der Media herdförmige Aktivitätsunterschiede (Diezel, 1966; Sandler et al., 1962). Alkalische Phosphatase und Lipase waren in den glatten Muskelzellen der Media enzymhistochemisch nicht nachweisbar, wie auch Adams, 1967, Gomori, 1946 und Hess et al., 1963 beschrieben. Den vier Mal positiven Befund der alkalischen Phosphatase an der Intima-Mediagrenze über maximal verdickter Intima können wir zur Zeit nicht erklären.

Im Gegensatz zu Hess et al. (1963), die Rattenaorten untersuchten und über einen inkonstanten Nachweis der sauren Phosphatase berichteten, konnten wir dieses Enzym regelmäßig in glatten Mediamuskelzellen von menschlichen Coronararterien nachweisen.

Adams et al. (1967, 1963) und Saudek et al. (1966) haben einen Aktivitätschwund der NADH₂-TR, ATP-ase und anderer NAD-abhängiger Enzyme sowie eine Aktivitätszunahme der LDH in glatten Muskelzellen des inneren Mediadriftels beobachtet. Wir fanden an nicht verfetteten Mediaabschnitten keine Bevorzugung eines Mediadriftels.

Methodenkritische Bemerkungen

Adams (1967) extrahierte die Schnitte vor Inkubation in kaltem Aceton, um eine Anfärbung von intracellulären Lipidtropfen mit Nitro-BT zu vermeiden und fügte dem Inkubationsmedium Phenazinmethosulfat (PMS) hinzu, das NADH₂ mit dem Tetrazoliumsalz zu Formazan reduziert (Bergmeyer et al., 1967) und nach Beobachtungen von Benitez et al. (1965) zu einer neuartigen Verteilung der Formazanniederschläge auch in Gefäßen führen soll. Hingegen fanden Sotonyi et al. (1965), daß Nitro-BT lipidunlöslich ist. Nach Verwendung von PMS haben Wenk et al. (1970) eine Neuverteilung der Diaphorrasen im Rattengehirn zeigen können. Wir fanden in den glatten Muskelzellen der Media keine Änderung der histotopochemischen Lokalisation der LDH, SDH und Diaphorrasen. Lediglich der Nachweis der SDH ließ sich durch PMS verbessern (Meyer-Ruge et al., 1971).

Celluläre Mediaverfettung

Enzyminduktion bei cellulärer Verfettung wurde bisher an Intimazellen nachgewiesen. So fanden vor allem Adams et al. (1963), Leites (1963), Müller et al. (1959) Sinapius (1964) und Zemplenyi et al. (1959) eine induktive Steigerung esterolytischer Aktivitäten bei resorptiver Verfettung von Intimazellen oder aktiver

Resorption tiefer Atherome. Nach unseren Untersuchungen gilt dies auch für celluläre Mediaverfettungen (Abb. 5b). Während Müller et al. (1959) eine gesteigerte Esteraseaktivität nur an intakten Zellen sahen, fanden wir in Übereinstimmung mit Lojda et al. (1961) das Enzym noch in und an zugrundegehenden Lipophagen.

Lipase, bestimmt nach Gomori (1946), war bei cellulärer Mediaverfettung nicht nachweisbar. Auch Gomori fand in der Regel, von Ausnahmen an Rattengefäßwänden abgesehen, in Gefäßwänden keine Lipaseaktivität. Auch alkalische Phosphatase war bei diesem Verfettungstyp nicht nachweisbar.

Die Aktivität der sauren Phosphatase mit ihren funktionellen Beziehungen zur Phagocytose, Pinocytose, Sekretion und Autolyse (Blank, 1969) war bei cellulärer Mediaverfettung deutlich gesteigert (Abb. 2). Die Aktivitätszunahme kann auf einer vermehrten Syntheseleistung oder einer gesteigerten resorptiven Tätigkeit beruhen. Wir sehen in dem intracellulären Anstieg dieses Enzyms einen Zusammenhang mit einer gesteigerten Synthese, z.B. von Phospholipiden (Lojda et al., 1961) und mit einer vermehrten Oxidation von Fettsäuren. Gestützt wird diese Deutung durch den histochemischen Nachweis von Phospholipiden in verfetteten Muskelzellen der Media und das intracelluläre Ceroid, das durch Polymerisation ungesättigter Fettsäuren entsteht (Sinapius, 1964; Sinapius, 1969). Auch biochemische Untersuchungen zeigen, daß Phospholipide in der Gefäßwand synthetisiert werden (Zemplenyi et al., 1969). Mit diesem Enzymnachweis erfaßt man ein Gemisch von Isoenzymen, die man zwar biochemisch, aber histochemisch noch nicht hinreichend genau trennen kann (Blank, 1969). Die Bedeutung der von uns gefundenen Tartrathemmung müßte noch weiter abgeklärt werden. Möglicherweise sind einige Isoenzyme bei Resorption, andere bei Syntheseleistungen vermehrt nachweisbar. Außer den genannten Enzymen zeigten die LDH (Abb. 7b), die Diaphorasen (Abb. 8b) und die SDH eine induktive Aktivitätssteigerung bei cellulärer Mediaverfettung. Lokalisation und Morphologie der SDH ähneln der LDH, nur ist die Aktivität dieses Enzyms in der Media insgesamt schwächer. Die Aktivität der NADH₂-Diaphorase war geringer als die NADPH₂-Diaphorase. Ein umgekehrtes Verhalten dieser Enzyme beobachteten Rudolph et al. (1966) an der Schweineaorta.

In verfetteten Muskelzellen war keine ATP-ase nachweisbar. In Abb. 4 erkennt man die negativ reagierenden verfetteten Zellen. Die Rolle der ATP-ase im Stoffwechsel der Gefäßwand ist noch weitgehend unklar. Es ist daher schwer, ihre herdförmig unterschiedliche Aktivität und ihr Fehlen bei cellulärer Verfettung zu erklären. Ob ihr intracelluläres Fehlen zu einer Anreicherung von ATP führt, das zur Kettenverlängerung von Fettsäuren oder zur Cholesterinsynthese in den Muskelzellen führt, müßte durch biochemische Untersuchungen geklärt werden.

Extracelluläre Mediaverfettung

Bei extracellulärer Verfettung waren die LDH (Abb. 7c), SDH, NADPH₂-Diaphorase (Abb. 8c) und ATP-ase nicht verändert.

In einigen von extracellulärem Fett umgebenen glatten Muskelzellen war die Aktivität der Esterase und NADH₂-Diaphorase vermindert. Saure Phosphatase fehlte in diesen Bezirken. Sie fehlte darüber hinaus in manchen Sektoren der

Media ohne erkennbare Beziehung zum Verfettungstyp oder zur Schichtdicke der Intima. Das Enzym war ferner wie die Esterase in der Umgebung zugrunde gegangener Lipophagen zu sehen.

Lipase konnten wir auch bei extracellulärer Verfettung an Coronararterien nicht nachweisen. Über einen positiven Enzymbefund berichteten Tischendorf et al. (1959) an atherosklerotisch veränderten Schenkelarterien. Sie wiesen das Enzym um Fetttropfen im subendothelialen Raum und in Atheromen nach und fanden eine gesteigerte Aktivität nach frischer Fettzufuhr und ein Fehlen des Enzyms, wenn die Verfettung durch „enzymatische Insuffizienz“ der Zellen irreversibel geworden war. Sie betonen wie auch George et al. (1963) die enge topographische Zuordnung von Enzym und Substrat. An Schenkelarterien fanden wir Lipase ebenfalls in extracellulären Verfettungsherden. Sollten die Befunde richtig sein, dann wäre Lipase ein Enzym, das im extracellulären Raum vorkäme. In der Regel sind Enzyme jedoch in intakten Zellen nachweisbar, so daß an der Aussagefähigkeit dieses Enzymnachweises Zweifel bestehen. Die enzymhistochemische Bestimmung der Tween-Lipase sollte zugunsten der Bestimmung der Tributyrin-Lipase nach Adams et al. (1969) verlassen werden.

Herdförmige celluläre und extracelluläre Mediaverfettung kennzeichnen sichtbar den Abtransport von Fett aus der Intima zur Adventitia (Sinapius, 1969). Wie unsere Untersuchungen zeigen, geht die Aufnahme von Fett in glatte Muskelzellen mit einer induktiven Steigerung hydrolytischer und oxidativer Enzyme einher, die wichtige metabolische Prozesse steuern. Fette können primär extracellulär liegen oder sekundär in den extracellulären Raum gelangen. In verfetteten glatten Muskelzellen erliegt der Stoffwechsel nach anfänglich induktiver Steigerung. Die Zellen gehen zugrunde. Ihr Fett gelangt in den extracellulären Raum. Histologisch sieht man Kernpyknosen und Zelluntergang (Sinapius, 1969) und enzymhistochemisch ein wahrscheinlich kurzfristiges Persistieren der Esterase und sauren Phosphatase im extracellulären Raum. Später fehlt die saure Phosphatase in Herden extracellulärer Verfettung vollständig. Ihr Fehlen zeigt an, daß die Zellen ihre spezifischen Funktionen verloren haben. Diese enzymeschwachen Bezirke in der Media hängen nach unseren Beobachtungen vom Verfettungstyp, weniger von der Schichtdicke der Intima ab. Zur Beantwortung dieser Frage sind genaue Messungen erforderlich. Offen bleibt, warum das Enzym auch bei primär extracellulärer Verfettung, wie sie im höheren Lebensalter vorkommt (Sinapius, 1964), und manchmal in normal erscheinenden Mediaabschnitten fehlt.

Widersprüchliche Ergebnisse biochemischer und histochemischer Untersuchungen der Lipase (Kirk, 1969; Maier et al., 1965) könnten darauf beruhen, daß sich die Substrate überlappen, die von unspezifischer Esterase und Lipase angegriffen werden. Beide Enzyme sind aber mit dem Fettstoffwechsel verknüpft.

Das Fehlen der alkalischen Phosphatase in den glatten Muskelzellen der Media ist unklar. Ob der positive Befund an der Intima-Mediagrenze über einem dicken Intimapolster mit einsprossenden Capillaren zusammenhängt, müßte noch untersucht werden.

Celluläre Mediaverfettung ist ein Hinweis auf eine aktive Rückbildung von tiefen Atheromen (Sinapius, 1969), die mit einer Stoffwechselsteigerung einhergeht. Manchmal können die Zellen das resorbierte Fett nicht ausreichend ver-

arbeiten und gehen zugrunde. Aus cellulärer wird extracelluläre Verfettung. Das Überwiegen extracellulärer intimaher Verfettung deutet an, daß celluläre Verfettung ein vorübergehender Zustand ist. Offen bleibt, was Muskelzellen veranlaßt, Fette auf ihrem Abtransport zur Adventitia überhaupt zu resorbieren, wenn sie manchmal sogar daran zugrunde gehen.

Herrn Prof. Dr. med. D. Sinapius möchte ich danken für die kritische Diskussion der Befunde und die Durchsicht des Manuscriptes, Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Blank, Institut für Histologie und Neuroanatomie, für wertvolle Hinweise zur Ausführung enzymhistochemischer Untersuchungen und Frau H. Liewald für ihre ausgezeichnete technische Assistenz.

Literatur

- Adams, C. M. W.: Vascular histochemistry. London: Lloyd-Luke 1967.
- Adams, C. M. W., Bayliss, O. B., Abdulla, Y. H., Mahler, F. R., Root, M. A., Lipase, esterase and triglyceride in the ageing human aorta. *J. Atheroscler. Res.* **9**, 87—102 (1969).
- Adams, C. M. W., Bayliss, O. B., Ibrahim, M. Z. M.: The distribution of lipids and enzymes in the aortic wall in dietary rabbit atheroma and human atherosclerosis. *J. Path. Bact.* **86**, 421—430 (1963).
- Adams, C. M. W., Bayliss, O. B., Orton, C. C.: Zonal increase in lactic dehydrogenase activity in the senescent human aorta. *J. Atheroscler. Res.* **7**, 567—572 (1967).
- Blank, M.: Enzymmuster saurer Phosphatasen im Zentralnervensystem. *Acta histochem. (Jena)* **33**, 280—294 (1969).
- Benitez, L., Fischer, R.: Effect of phenazinmethosulphate on the histochemical localisation of lactate dehydrogenase. *Nature (Lond.)* **3**, 105—106 (1965).
- Bergmeyer, H. U., Bernt, E.: Farbtest mit L-Laktat, NAD und Phenazinmethosulfat. In: Handbuch der enzymatischen Analyse. Weinheim: Verlag Chemie 1967.
- Diezel, P. B.: Histochemische Befunde an der Gefäßwand bei Arteriosklerose. In: Pathophysiologische und klinische Aspekte des Fettstoffwechsels. Stuttgart: Thieme 1966.
- George, J. C., Amabadkar, P. M.: Histochemical demonstration of lipids and lipaseactivity in rat testis. *J. Histochem. Cytochem.* **11**, 420—425 (1963).
- Gomori, G.: Distribution of lipase in the tissues under normal and under pathologic conditions. *Arch. Path.* **41**, 121—129 (1946).
- Hess, R., Stäubli, W.: The development of aortic lipoidosis in the rat. *Amer. J. Path.* **3**, 301—318 (1963).
- Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. Stuttgart: Thieme 1970.
- Kirk, J. E.: Enzyme activities and coenzyme concentrations of normal human vascular tissue. Angiology Part II, 145—161 (1969).
- Leites, F. L.: Activity of lipolytic enzymes in atherosclerosis. *Fed. Proc.* **23**, 565—568 (1963).
- Lojda, Z., Zemplényi, T.: Histochemistry of some enzymes of the vascular wall in experimental rabbit atheromatosis. *J. Atheroscler. Res.* **1**, 101—120 (1961).
- Maier, N., Haimovici, H.: Metabolism of arterial tissue with special reference to esterase and lipase. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **118**, 258—261 (1965).
- Maier, N., Haimovici, H.: Oxidative capacity of atherosclerotic tissue of rabbit and dog with special reference to succinic dehydrogenase and cytochromoxidase. *Circulat. Res.* **16**, 65—74 (1965).
- Meyer-Ruge, W., Bielser, W., Jr., Wiederhold, K. H., Meyenhofer, K.: Incubation media for routine laboratory work on enzyme histochemistry. *Beitr. Path.* **144**, 409—431 (1971).
- Müller, E., Neumann, W.: Untersuchungen über Esteraseaktivität der Gefäßintima im Bereich atherosklerotischer Herde. *Frankfurt. Z. Path.* **70**, 174—186 (1959).
- Pearse, A. G. E.: Histochemistry. London: Churchill 1968.
- Rudolph, G., Lennartz, K. J.: Enzymhistochemische und autoradiografische Untersuchungen an bradytropen Geweben. *Klin. Wschr.* **14**, 837—841 (1966).
- Sandler, M., Bourne, H.: Atheroma of the aorta and the possible role of unsaturated fatty acid deficiency in its formation. *Nature (Lond.)* **193**, 1184—1185 (1962).

- Saudek, Ch., Adams, C. M. W., Bayliss, O. B.: The quantitative histochemistry an cytochemistry of lactic dehydrogenase and NADH₂-tetrazoliumreduktase in human aortic wall. *J. Path. Bact.* **92**, 265—279 (1966).
- Sinapius, D.: Zur Morphologie der Fettresorption bei Atherosklerose der Coronararterien. *Virchows Arch. path. Anat.* **338**, 150—160 (1964).
- Sinapius, D.: Mediaverfettung bei Atherosklerose. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **53**, 456—548 (1969).
- Sinapius, D., Gunkel, R. D.: Ceroid bei Lipoidose und Atherosklerose der Aorta. Morphologie und Histochemie. *Frankfurt. Z. Path.* **73**, 485—500 (1964).
- Somlyo, A. P., Somlyo, A. V.: Vascular smooth muscle. I. Normal structure, pathology, biochemistry and biophysics. *Pharmacol. Rev.* **20**, 197—272 (1968).
- Sotonyi, P., Hüttner, J., Jellinek, H., Toth, A., Makoi, Z.: Enzymhistochemische Untersuchungen an Gefäßwänden bei Versuchstieren. *Acta histochem. (Jena)* **21**, 213—218 (1965).
- Tischendorf, F., Curri, S. B.: Das Verhalten der Lipase atherosklerotisch veränderten Arterien vom muskulären Typ. *Acta histochem. (Jena)* **8**, 158—166 (1959).
- Wenk, H., Ritter, J., Meyer, W.: Beitrag zum histochemischen Nachweis pyridinnucleotid-abhängiger Dehydrogenase; der Einfluß von Coenzym und Phenazinmethosulfat auf die histotopochemische Lokalisation. *Acta histochem. (Jena)* **37**, 379—396 (1970).
- Whereat, A. F.: Fatty acid biosynthesis in aorta and heart. *Advanc. Lipid Res.* **9**, 119—159 (1970).
- Wissler, R. W.: The arterial medial cell, smooth muscle or multifunctional mesenchym? *Atheroscler. Res.* **8**, 201—213 (1968).
- Wolkoff, K.: Über die Atherosklerose der Coronararterien des Herzens. *Beitr. path. Anat.* **82**, 555—596 (1929).
- Zemplenyi, T.: Enzymes of the arterial wall. *J. Atheroscler. Res.* **2**, 2—24 (1962).
- Zemplenyi, T.: Enzyme biochemistry of the arterial wall. London: Lloyd-Luke Ltd. 1968.
- Zemplenyi, T., Lojda, Z., Grafnetter, D.: Relationship of lipolytic and esterolytic activity of the aorta to susceptibility to experimental atherosclerosis. *Circulat. Res.* **7**, 286—290 (1959).
- Zemplenyi, T., Urbanova, D., Mrhova, O.: Contributions of vascular enzyme studies to problems of atherogenesis. Int. Symp. Biochemistry of the Vascular Wall, Fribourg 1968. Angiology Part II. Basel-New York: Karger 1969.

Dr. med. K.-H. Bründel
Pathologisches Institut der Universität
Göttingen
D-3400 Göttingen, Goßlerstr. 10
Bundesrepublik Deutschland