

Morphologische Veränderungen an der Rattenaorta nach experimenteller Ligatur des Ductus thoracicus

H. Cremer und N. Müller

Pathologisches Institut der Universität Bonn (Direktor Prof. Dr. P. Gedigk)

Eingegangen am 4. Januar 1973

Morphological Differences in the Aorta of Rat Following Experimental Ligation of the Thoracic Duct

Summary. After ligation of the thoracic duct in the rats the adventitia of the aorta abdominalis shows a protein rich fluid within the first days. The same changes become visible in the aorta thoracica after 6—8 days and in the Aorta ascendens after 8—10 days. After 10—12 days the Aorta ascendens also exhibits a vacuolization of the muscle cells of the aortic walls. Cell necroses were never detected. In the chronic experiment the changes disappeared after causing a small increase of connective tissue in the adventitia.

These data support the theory of perfusion inaugurated by Doerr. On the other hand this method is not practicable in producing an atherosclerosis *sensu strictiori*.

Zusammenfassung. Nach Unterbindung des Ductus thoracicus bei Ratten stellt sich nach 4—6 Tagen innerhalb der verbreiterten Adventitia der Bauchaorta ein eiweißreiches Ödem dar. Die gleichen Veränderungen sind nach 6—8 Tagen in der Brustaorta und nach 8—10 Tagen in der Aorta ascendens zu erkennen. Darüber hinaus tritt nach dem 10.—12. Tage in der Aorta ascendens eine starke Vacuolisierung der glatten Muskelzellen auf. Zelluntergänge sind nicht feststellbar.

Im chronischen Versuch bilden sich die Veränderungen um den 34.—44. Tag zurück, es resultiert am 109. Versuchstag lediglich eine geringe adventitielle Fibrose. Intimaveränderungen nach Art einer Arteriosklerose sind durch die vorliegende Versuchsanordnung nicht hervorzurufen.

Die Untersuchung bestätigt die Ansicht des Vorliegens eines schräg-longitudinal durch die Aortenwand gerichteten Perfusionsstromes.

Im Jahre 1963 beschrieb Doerr eine „Perfusionstheorie der Arteriosklerose“. Danach sickert ein schräg-longitudinal gerichteter Perfusionsstrom durch die Gefäßwände. „Sollten die Vasa vasorum *und* die in der Adventitia gelegenen Lymphbahnen okkupiert sein, würde vor allem an der Intima-Mediagrenze ein besonders deutliches zylindermantelförmig ausgebreitetes Ödem entstehen“ (Doerr, 1970 a). Dieses kann sich u. U. zur Initialläsion einer Arteriosklerose entwickeln (Doerr, 1970 a; Haust, 1971).

Fritsch (1964), Shionoya *et al.* (1969) sowie zuletzt Doerr (1970 b) konnten zahlreiche Hinweise für die Richtigkeit dieser Überlegungen erbringen. Der experimentelle Beweis eines pathogenetischen Prinzipes einer ausschließlichen Lymphstase beim Zustandekommen einer arteriosklerotischen Initialläsion steht allerdings noch aus.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, die Rolle einer ausschließlichen

Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Lymphstase beim Zustandekommen einer arteriosklerotischen Initialäsion experimentell zu überprüfen. Als Versuchstier wählten wir die Ratte. Um alle — im Rahmen des anatomisch Möglichen — Lymphgefäße zu erfassen, haben wir den Ductus thoracicus vor seiner Einmündung in den linken Venenwinkel unterbunden. Diese Methode führt zugleich zu einer mehrere Monate anhaltenden endogenen Hyperlipaämie (Cremer *et al.*, 1972). Eine Stoffwechselabweichung, welche für die vorliegende Zielsetzung nur erwünscht sein kann.

Material und Methoden

Als Versuchstiere dienten 132 weiße, männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten (200—400 g). Die Tiere erhielten das Standardfutter Altromin sowie Wasser ad libitum. Die Ligatur des Ductus thoracicus führten wir in Nembutalnarkose (40 mg/kg Körpergewicht, i. p.) in einer Modifikation der von Salden *et al.* (1960) und Azargoschashb (1963) angegebenen Technik durch. Die Tötung der Tiere erfolgte durch Decapitation im leichten Ätherrausch nach 1—10, 12, 15, 34, 44, 79, 90 und 109 Tagen. Bei der Sektion entnahmen wir Gewebsproben von der Aorta ascendens dicht oberhalb der Klappen sowie von der Bauchaorta in Höhe des 1. LWK. Die Brustwirbelsäule wurde mit Aorta, Ductus thoracicus etc. en bloc entfernt und nach scharfem Entkalkung in zahlreichen Stufen aufgeschnitten. Die Proben wurden in Formalin fixiert und in üblicher Weise zur histologischen Untersuchung vorbereitet. Folgende Färbe方法en kamen zur Anwendung: Mayers-Hämalaun-Eosin, Elastica-Färbung nach Verhoeff, Triehrom-Färbung nach Goldner, Hämalaun-Sudan-Färbung, PAS-Reaktion.

Ergebnisse

1. Bauchaorta

Nach 4—6 Tagen stellt sich innerhalb der verbreiterten Adventitia ein eiweißreiches Ödem dar. Die darin eingeschlossenen Capillaren sind entfaltet. Auf die Adventitia folgen lichtungswärts 8—10 zirkulär verlaufende regelrecht beschaffene elastische Lamellen ohne Querverbindungen. Die dazwischenliegende Grundsubstanz zeigt keine wesentlichen krankhaften Veränderungen; auch das eingeschlossene Zellgut ist regelrecht (Abb. 1 a).

Nach 12 Tagen werden die elastischen Lamellen durch Ödemseen auseinandergedrängt; sie verlaufen stärker gewellt. Elasticadefekte sind jedoch nicht feststell-

Abb. 1. a Bauchaorta, Ratte, 8. postoperativer Versuchstag. Innerhalb der verbreiterten Adventitia stellt sich eine lichtoptisch dichte Flüssigkeit dar. Die Aortenwand besteht aus 8—10 regelrecht beschaffenen elastischen Lamellen. Die Längsachsen der Kerne der glatten Muskelfasern verlaufen zirkulär. Die dazwischenliegende Grundsubstanz weist keine wesentlichen krankhaften Veränderungen auf. Hämatoxylin-Eosin, Vergr 1:100 (verkleinert auf 9/10). b Brustaorta, Ratte, 10. postoperativer Versuchstag. Eiweißhaltige Flüssigkeit innerhalb der verbreiterten Adventitia. Die Aortenwand schließt regelrecht beschaffene elastische Lamellen ein. Beginnende Vacuolisierung der interlamellären Grundsubstanz im äußeren Drittel. Vacuolisierung der glatten Muskelfasern daselbst mit Abrundung der Kerne und Radiärstellung derselben. Hämatoxylin-Eosin, Vergr. 1:120 (verkleinert auf 9/10). c Aorta ascendens, Ratte, 15. postoperativer Versuchstag. Mäßig eiweißreiches Ödem innerhalb der verbreiterten Adventitia. Die Aortenwand schließt 10—12 elastische Lamellen ein. Die interlamelläre Grundsubstanz ist in den äußeren Schichten aufgelockert und die elastischen Lamellen verlaufen hier gewellt. Die glatten Muskelfasern sind vacuolisiert, ihre Kerne radiär gestellt. Zelluntergänge sind jedoch nicht nachweisbar. Die Aortenwand ist verbreitert, Ödem der Kollagenscheiden um die elastischen Lamellen mit einer Änderung des Lichtbrechungsvermögens. Hämatoxylin-Eosin, Verg. 1:125 (verkleinert auf 9/10).

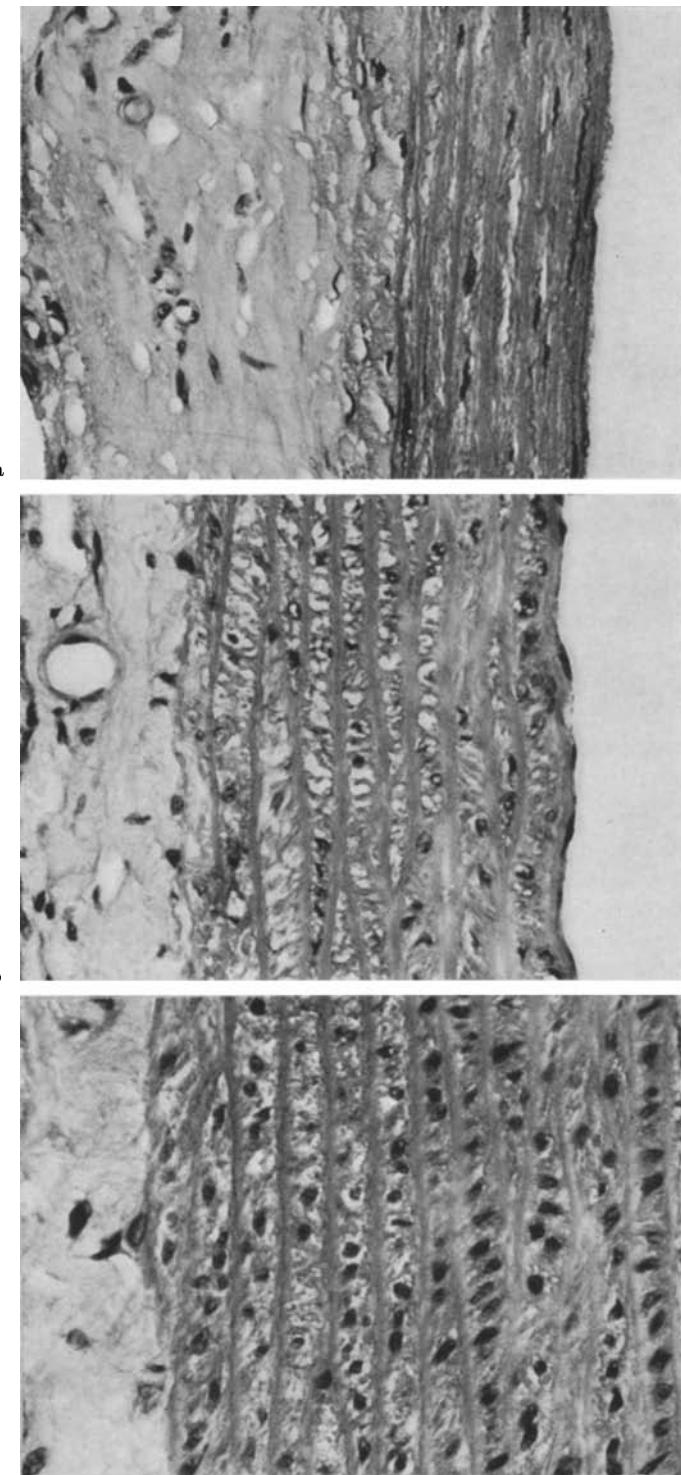


Abb. 1a—c

bar. Die Aortenwand erscheint verdickt. Die Veränderungen stellen sich auch in den innersten Wandschichten dar. Sie sind besonders um die Abgänge der Seitenäste betont. Eine Vacuolisierung der glatten Muskelzellen ist nicht festzustellen; Zelluntergänge fehlen. Das adventitielle Ödem besteht unverändert fort.

Nach 34 Tagen bilden sich die Veränderungen in der Reihenfolge ihres Auftretens zurück.

Nach 109 Tagen ist innerhalb der Adventitia eine geringe Zunahme des Bindegewebes zu registrieren. Im subendothelialen bzw. intramuralen Bindegewebe zwischen den elastischen Lamellen der Aortenwand ist keine Fibrose nachweisbar.

2. Brustaorta

Die Brustaorta lässt bis zum 6./8. postoperativen Versuchstag keine wesentlichen krankhaften Veränderungen erkennen. Danach entwickeln sich die gleichen Veränderungen, welche zuvor an der Bauchaorta abgelaufen sind: zwischen den 8—10 regelrecht beschaffenen elastischen Lamellen der Brustaorta sammelt sich eine eiweißreiche Flüssigkeit in Form von kleinen Seen an. Hierdurch treten die elastischen Lamellen deutlicher hervor. Ihr Verlauf erscheint gewellt. Faserrisse stellen sich nicht dar. Die Wand ist verdickt. Ferner ist eine Vacuolisierung der glatten Muskelfasern festzustellen (Abb. 1 b).

Nach 44 Tagen bilden sich die Veränderungen in der Reihenfolge ihres Auftretens zurück.

Nach 109 Tagen sind die ödematösen Veränderungen verschwunden; eine leichte adventitielle Fibrose ist zurückgeblieben. Das subendothiale und intramurale Bindegewebe ist nicht verändert.

3. Aorta ascendens

Die Aorta ascendens zeigt bis zum 8./10. postoperativen Versuchstag keine wesentlichen krankhaften Veränderungen. Danach bildet sich innerhalb der Adventitia ein mantelförmiges, eiweißreiches Ödem aus. Gleichzeitig drängen seenartige Flüssigkeitsansammlungen in den äußeren Schichten die elastischen Lamellen auseinander. Die Grundsubstanz ist hier aufgelockert. Diese Veränderung schreitet von außen nach innen fort (Abb. 1 c).

Um den 10.—12. postoperativen Versuchstag kommt es zu einer starken, perinuklear betonten Vacuolisierung aller glatten Muskelzellen der Aorta ascendens. Gleichzeitig lagern sich die Kerne der glatten Muskelfasern aus einer zirkulären Verlaufsrichtung in eine radiäre Stellung um. Zelluntergänge sind nicht festzustellen. Die elastischen Lamellen verlaufen gewellt, die Wand ist verdickt (Abb. 2).

Auch nach 44 Tagen sind ödematöse bzw. vacuoläre Veränderungen noch zu beobachten.

Nach 109 Tagen sind dieselben jedoch nicht mehr nachweisbar. Es ist zu einer leichten adventitiellen Fibrose gekommen. Diese hat sich bevorzugt in dem bindegewebigen Zwickel zwischen dem Truncus pulmonalis und der Aorta ascendens ausgebildet. Das subendothiale und intramurale Bindegewebe der Aorta ascendens zeigt keine Fibrosierung. Der Truncus pulmonalis lässt keine wesentlichen krankhaften Veränderungen erkennen.

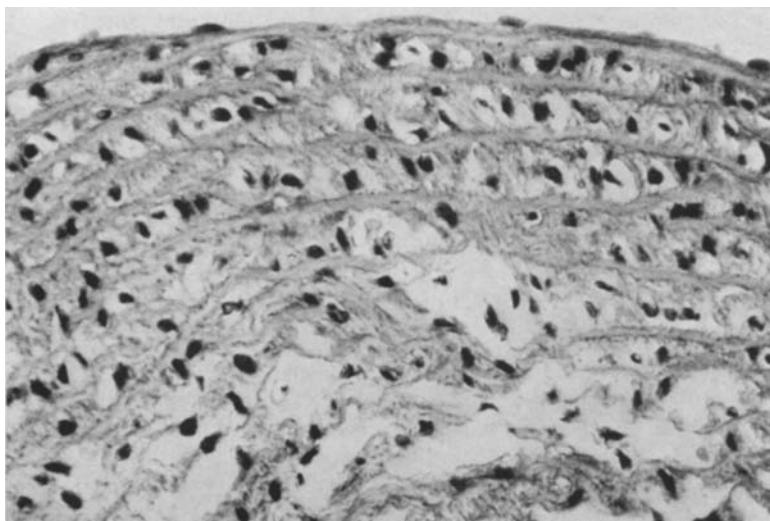


Abb. 2. Aorta ascendens, Ratte, 12. postoperativer Versuchstag. Ödempfützen in der interlamellären Grundsubstanz drängen die elastischen Fasern der äußeren Aortenwandschichten auseinander. Vacuolisierung der glatten Muskelzellen in allen Wandschichten, Abrundung und Radiärstellung der Kerne. Wandverbreiterung. Ödem der Kollagenscheiden um die elastischen Fasern, verändertes Lichtbrechungsvermögen. Hämatoxylin-Eosin, Vergr. 1:200

Die Gesamtlipide zeigen einen biphasischen Verlauf mit einem Gipfel um den 2.—3. Tag und einen zweiten Gipfel um den 10.—12. postoperativen Versuchstag. Danach klingen sie bis zum Versuchsende allmählich ab.

Diskussion

Wie aus der Beschreibung der histologischen Befunde hervorgeht, manifestiert sich das Lymphödem nach 4—6 Tagen zunächst nur in der Bauchaorta. Innerhalb der Wand der Aorta ascendens bzw. der Brustaorta kommt es zu diesem Zeitpunkt noch nicht zur Ausbildung eines manifesten Ödems. Offenbar führt der schräg-longitudinal durch die Aortenwand gerichtete Perfusionsstrom die gesamte, von der Lichtung in die Wand der Aorta einsickernde Flüssigkeit intramural in die Bauchaorta ab. Hier entwickelt sich, offenbar infolge der Lymphblockade und des dadurch bedingten größeren Volumens des intramural absteigenden Perfusionsstromes, ein Flüssigkeitsstau. Histologisches Äquivalent desselben sind das adventitielle Lymphödem am 4./6. postoperativen Versuchstag und die Lockerung der Grundsubstanz zu den späteren Versuchstagen. Diese Flüssigkeitsansammlung steigt offenbar intramural aufwärts und erreicht nach 6—8 Tagen die Brustaorta und nach 8—10 Tagen die Aorta ascendens. Wir sehen in diesem Verhalten einen indirekten Beweis für die Richtigkeit der Doerrschen Theorie eines schräg-longitudinal durch die Aortenwand gerichteten Perfusionsstromes.

Nach 4—6 Wochen bilden sich diese Erscheinungen zurück, vermutlich weil die Lymphzirkulation entweder über Anastomosen zu nicht blockierten Lymphgefäßprovinzen restituiert wurde oder eine Entfaltung kollateraler Lymphbahnen

bzw. eine Neubildung abführender Lymphwege stattgefunden hat. Nach 4 Monaten persistiert lediglich eine geringe adventitiale Fibrose. Eine Zunahme des subendothelialen oder intramuralen Bindegewebes ist nicht festzustellen.

Vergleichbare Befunde haben vor uns bereits andere Untersucher an den Gefäßen des Gehirns, der Netzhaut, der Haut, der Lungen, des Herzens, der Milz, der Nieren sowie der Eierstöcke (Literatur bei Földi, 1972) beobachtet. Földi (1972) hat derartige Gefäßwandveränderungen als „lymphostatische Hämangiopathie“ bezeichnet.

Besonderer Erörterung bedarf weiterhin die Vacuolisierung der glatten Muskelzellen der Aorta ascendens. Wie die Betrachtung der Abb. 1c bzw. 2 zeigt, ist die Wand der Aorta ascendens mit ihren durchschnittlich 10—12 elastischen Lamellen dicker als diejenige der Brust- bzw. der Bauchaorta mit ihren 8—10 elastischen Lamellen. Eine Flüssigkeitseinlagerung wird hier leichter zu einer Überschreitung der „kritischen Schichtdicke“ führen. Die Folge ist, daß die glatten Muskelzellen, von außen nach innen fortschreitend, in einen hypoxischen Zustand geraten. Morphologisches Äquivalent desselben ist die Vacuolisierung der glatten Muskelfasern, nicht jedoch ihr Untergang. Lassen sich Muskelfasernekrosen bzw. ein resorbierendes Granulationsgewebe innerhalb der Media nachweisen, so sind diese Veränderungen am ehesten als eine Störung der Blutversorgung der Gefäßwand über die Vasa vasorum anzusehen (de Faria, 1970; Nakata *et al.*, 1970; Zellweger *et al.*, 1970).

Abschließend ist zu diskutieren, welche Bedeutung diese Untersuchungen für die Pathogenese der menschlichen Arteriosklerose haben können. Grundsätzlich ist festzuhalten, daß die Doerrschen Vorstellungen eines schräg-longitudinal durch die Aortenwand gerichteten Perfusionsstromes durch die vorliegenden Befunde eine starke Stütze erhalten haben. Hingegen sind Intimaveränderungen nach Art einer Arteriosklerose mit der vorliegenden Versuchsanordnung bei der Ratte nicht hervorzurufen.

Vor einer kritiklosen Übertragung dieses Ergebnisses auf die Pathogenese der menschlichen Arteriosklerose sei jedoch gewarnt, da der Wandaufbau der Ratten-aorta nicht demjenigen des Menschen entspricht. Manche Autoren haben daher das Tierexperiment zur Lösung pathogenetischer Fragen der Arteriosklerose für problematische gehalten (Wegener, 1969).

Literatur

- Azargoschasp, K.: Ductus thoracicus und Ductus thoracicus-Lymphe der Ratte. *Z. ges. exp. Med.* **137**, 541—553 (1963).
- Cremer, H., Müller, N., Bechtelsheimer, H.: Morphologische Untersuchungen an Leber und Dünndarm sowie lipidchemische Untersuchungen im Serum nach experimenteller Ligatur des Ductus thoracicus bei Ratten. *Virchows Arch. Abt. A* **355**, 309—322 (1972).
- Doerr, W.: Perfusionstheorie der Arteriosklerose. Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie. Stuttgart: G. Thieme 1963.
- Doerr, W.: Spezielle pathologische Anatomie I, Heidelberger Taschenbücher. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970a.
- Doerr, W.: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. 3: Zwischensubstanzen, Gewebe, Organe, Vierter Teil: Allgemeine Pathologie der Organe des Kreislaufes, S. 205—755. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970b.
- Faria, J. L. de: On the origin of smooth muscle cells in the intimal thickening of rabbit aorta following orthostatic collapse. *Beitr. path. Anat.* **140**, 333—344 (1970).

- Földi, M.: Physiologie und Pathophysiologie des Lymphgefäßsystems, S. 239—310. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. 3: Zwischensubstanzen, Gewebe, Organe, 6. Teil: Lymphgefäßsystem. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1972.
- Fritsch, H.: Die blastomatöse Einscheidung der Aorta. Kreisl.-Forsch. **54**, 64—80 (1964).
- Haust, M. D.: The morphogenesis and fate of potential and early atherosclerotic lesions in man. Hum. Pathology **2**, 1, 1—29 (1971).
- Nakata, Y., Kamiya, K.: An experimental study on the vascular lesions by obstruction of the vasa vasorum (II). Special consideration on the deposition of fat into vascular wall. Jap. Circulat. J. **34**, 1029—1034 (1970).
- Salden, T., Lindner, E.: A method for longterm collection of lymph from the thoracie duct in rats. Acta path. microbiol. scand. **49**, 433—437 (1960).
- Shionoya, S., Griss, P.: Zur Pathogenese der Takayasu-Krankheit. Arthusphänomen an den Vasa Vasorum. Virchows Arch. Abt. A **348**, 269—280 (1969).
- Wegener, K.: Koronarverschluß. Histogenese der sklerotischen Plaques und regressive Veränderungen. Arch. Kreisl.-Forsch. **58**, 102—187 (1969).
- Zellweger, J. P., Chapuis, G., Mirkovitch, V.: Conséquences morphologiques de l'emballage de l'aorte du chien dans une membrane de caoutchouc siliconé. Virchows Arch. Abt. A **350**, 22—35 (1970).

Dr. H. Cremer
Dr. N. Müller
Pathologisches Institut der Universität
D-5300 Bonn 1, Postfach
Bundesrepublik Deutschland