

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Entstehung von 'ghost bodies' in Aorten*

E. Veltmann, K.-P. Backwinkel, H. Themann und W. H. Hauss

Lehrstuhl für Medizinische Cytobiologie (Leiter: Prof. Dr. H. Themann) und Medizinische
Klinik und Poliklinik (Direktor: Prof. Dr. W. H. Hauss) der Westfälischen Wilhelms-Universi-
tät Münster

Eingegangen am 7. Mai 1975

Electron Microscopic Investigations in the Origin of 'Ghost Bodies' in the Aorta

Summary. Electron microscopic studies on aortas of normal mongrel dogs revealed a special form of degeneration of vascular smooth muscle cells and the mode of origin of 'ghost bodies'. These are formed by budding off portions of cytoplasm of smooth muscle cells probably as a result of worsening of the metabolic situation of these cells with increasing age.

Key words: Aging aorta — Smooth muscle cell — Origin of ghost bodies.

Zusammenfassung. In einer elektronenmikroskopischen Studie wird über das Vorkommen und den Entstehungsmechanismus sogenannter 'ghost bodies' in der Aorta des Hundes berichtet. Dabei handelt es sich um das morphologische Substrat einer besonderen Degenerationsform glatter Gefäßwandmuskulzellen, welche vermehrt in Aorten älterer Hunde in Erscheinung tritt.

'Ghost bodies' entstehen aufgrund der vorliegenden Untersuchungen durch Abschnürung von Cytoplasmaarealen glatter Muskelzellen, vermutlich infolge der sich mit zunehmendem Alter verschlechternden metabolischen Situation dieser Zellen.

Einleitung

Membranbegrenzte, rundlich ovale, organellenlose Gebilde in der Arterienwand werden als 'ghost bodies' bezeichnet (Thomas *et al.*, 1968; Lazzarini Robertson *et al.*, 1972; Cavallero *et al.*, 1974). Ihr Vorkommen wird bei der experimentellen Arteriosklerose beim Hund (Lazzarini Robertson *et al.*, 1972), in der Kaninchenaorta nach Adrenalinapplikation (Cavallero *et al.*, 1974) sowie in der Schweineaorta nach Cholesterolfütterung (Thomas *et al.*, 1968) beschrieben. Sie werden allgemein als Zeichen einer cytoplasmatischen Degeneration angesehen, ohne daß Angaben über ihre Herkunft bzw. ihren Entstehungsmechanismus gemacht werden.

In der hier vorliegenden Studie soll über das Vorkommen und den Entstehungsmechanismus sogenannter 'ghost bodies' in den Aorten alternder Hunde berichtet werden.

Material und Methode

Aorten von 25 Hunden verschiedenen Geschlechts und unterschiedlicher Rassen im Alter von 6 Monaten bis 15 Jahren wurden in Barbituratnarkose nach Laparotomie und Thorako-

* Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 104).

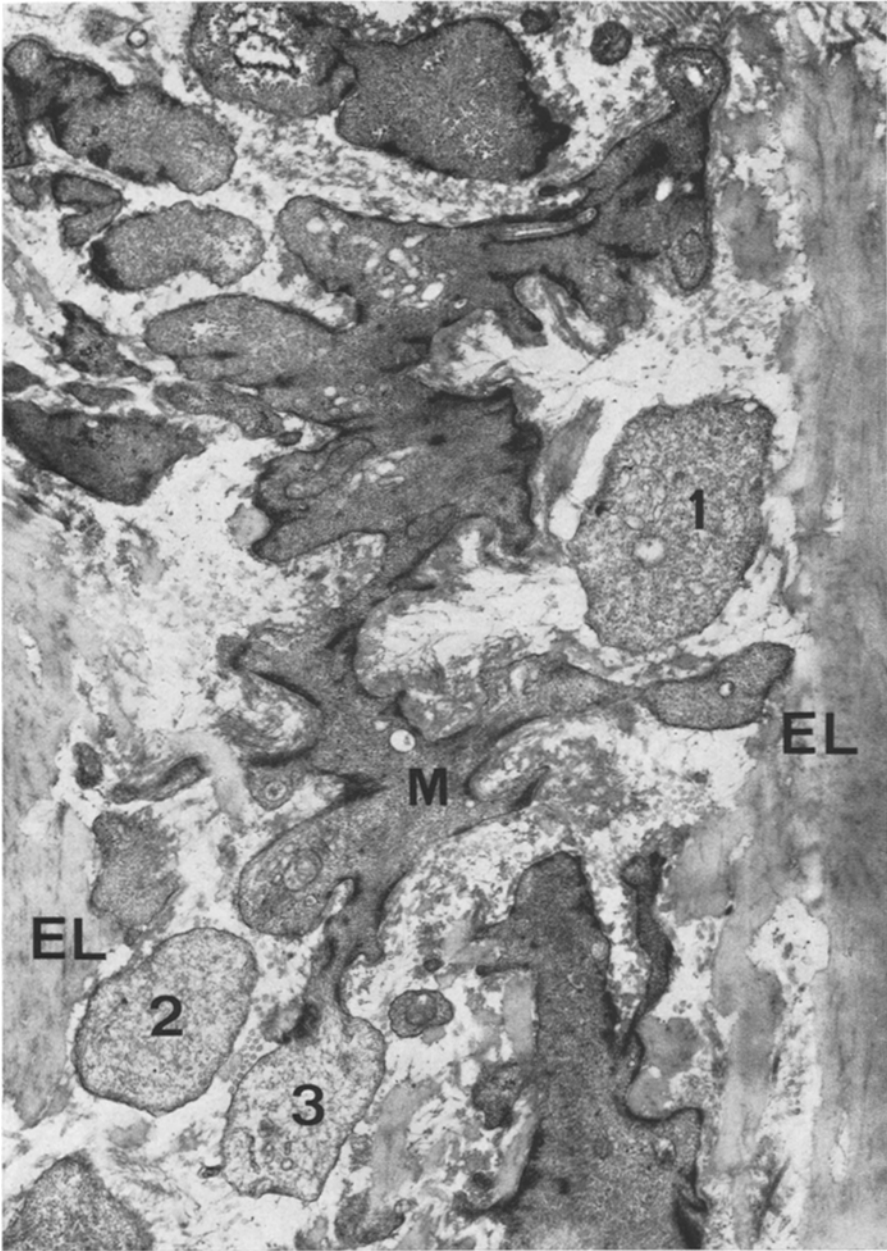


Abb. 1. Glatte Muskelzelle (*M*) mit Invaginationen der Zelloberfläche und zahlreichen Ausstülpungen. Zwei 'ghost bodies' (1, 2) bereits vollständig vom Zelleib abgetrennt, während ein anderer (3) über eine schmale Cytoplasmabrücke mit der Zelle verbunden ist. *EL* elastische Medialamellen. Vergr. 27 400×

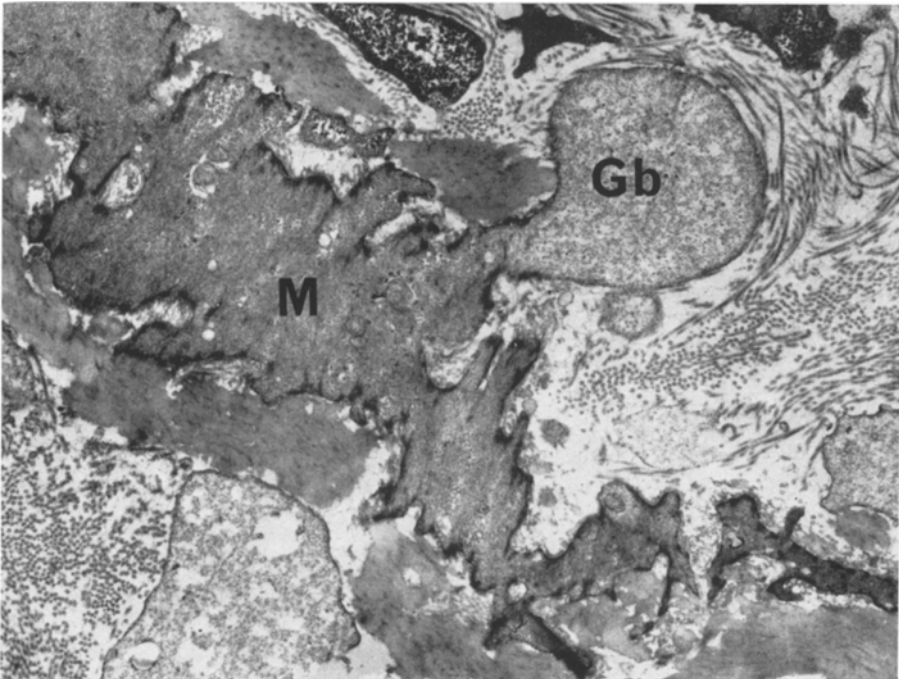


Abb. 2. 'Ghost body' (*Gb*) im Stadium der Abschnürung von einer glatten Muskelzelle (*M*).
Vergr. 9300 \times

tomie in toto entnommen. Nach Aufschneiden in Längsrichtung erschien die Intima aller Aorten makroskopisch frei von arteriosklerotischen Veränderungen. Aus dem Aortenbogen sowie aus der Aorta abdominalis wurde je ein schmaler Ring entnommen und in 2,25% iger Glutaraldehyd (0,05 M Phosphatpuffer pH 7,4) für die Dauer von 4 h bei 4° C fixiert. Über Nacht wurde in Phosphatpufferlösung (pH 7,2) ausgewaschen, mit 1,33% OsO₄-Lösung (pH 7,2) für 2 h bei 4° C nachfixiert und in aufsteigender Alkoholreihe entwässert. Die Einbettung der Präparate erfolgte in Epon 812. Die mit einem Porter-Blum-Ultramikrotom hergestellten Dünnschnitte wurden mit Uranylacetat und Reynold'schem Bleicitrat nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Präparate erfolgte mit dem Philips EM 201 und EM 300 bei 80 kV Strahlenspannung.

Ergebnisse

Zahlreiche glatte Muskelzellen alternder Hunde weisen unregelmäßig stark ausgeprägte Invaginationen der Zelloberfläche auf, während sich gleichzeitig zungen- oder pilzförmige Cytoplasmavorwölbungen ausbilden (Abb. 1). Gelegentlich sind die Cytoplasmaausstülpungen mit dem eigentlichen Zelleib nurmehr über eine schmale hals- oder stielartige Cytoplasmabrücke verbunden (Abb. 3). Die eine jede glatte Muskelzelle kontinuierlich umgebende Basalmembran ist im Bereich der Einschnürung nicht mehr nachweisbar, so daß die Cytoplasmaausstülpungen gegen den Interzellularraum nur durch das Plasmalemm abgegrenzt werden. Die

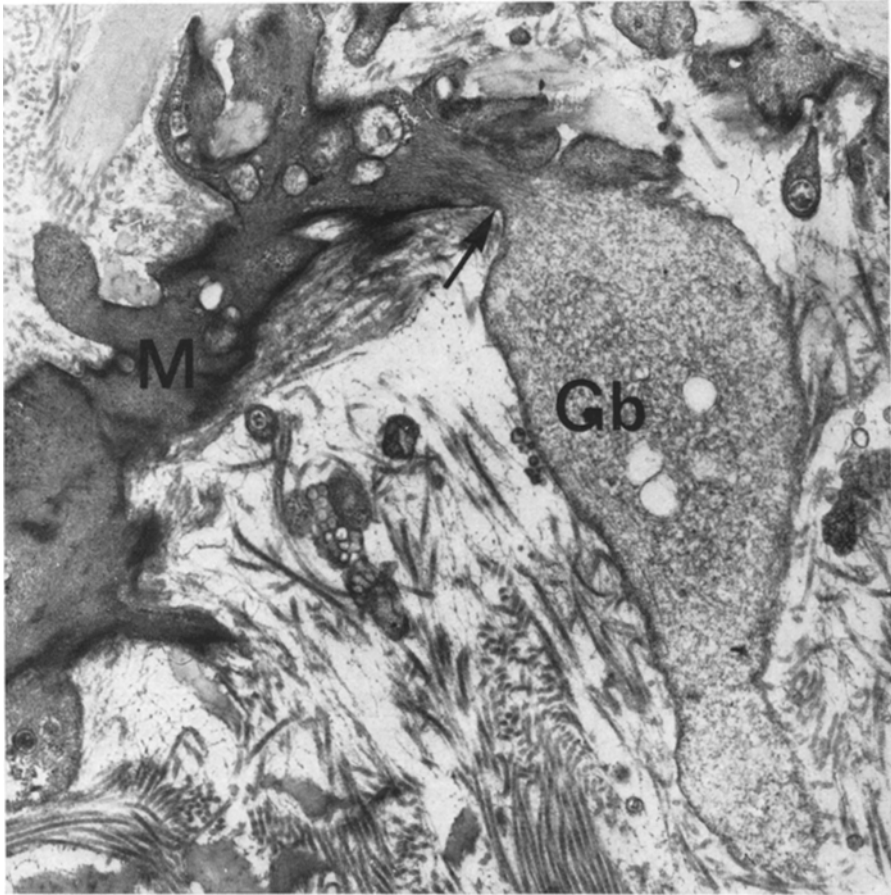


Abb. 3. Deutlicher Unterschied der cytoplasmatischen Ultrastruktur und Elektronendichte im Bereich der stiel förmigen Cytoplasmabrücke (Pfeil). Die Myofibrillen der Muskelzelle (*M*) sind in dem sich abschnürenden Zellareal (*Gb*) nicht nachzuweisen. Vergr.: 27 400 ×

Ultrastruktur des Cytoplasmas der teilweise pilzförmigen Ausstülpungen ist deutlich von der des eigentlichen Myoplasmas verschieden (Abb. 2,3). Typische Zellorganellen werden ebensowenig wie Myofilamente oder dense attachments beobachtet. Die Matrix der Ausstülpungen ist elektronenoptisch eher feingranulär oder amorph, während die Myofilamente im Bereich der Einschnürung sich auflösen (Abb. 3). Gelegentlich werden in glatten Muskelzellen, die zahlreiche Ausstülpungen aufweisen, unterschiedlich große organellen- und myofibrillenfreie Cytoplasmaareale gefunden, die in ihrer Substruktur der Matrix in den Ausstülpungen recht ähnlich sind (Abb. 4).

In der Media von Aorten alter Hunde sind fokal nur noch membranbegrenzte vakuolige Gebilde unterschiedlicher Form und Größe zwischen den elastischen Lamellen nachweisbar (Abb. 5). Sie enthalten häufig ein granuläres oder feinflockiges Material unterschiedlicher Elektronendichte, in das gelegentlich Membran-



Abb. 4. Glatte Muskelzelle (*M*) mit randständiger Verdrängung der Myofibrillen und deutlicher Basalmembran (Pfeil). Die cytoplasmatische Matrix weist in großen Teilen weitgehende Ähnlichkeit mit dem Inhalt der 'ghost bodies' (*Gb*) auf. Vergr.: 20000 \times

fragmente sowie membranbegrenzte vesikuläre Gebilde eingelagert sind. Vereinzelt werden auch Myelinfiguren beobachtet. Andere wiederum erscheinen elektronenoptisch weitgehend leer, im Verlauf der sie umhüllenden Membran lassen sich Diskontinuitäten nachweisen (Abb. 6).

Diskussion

Die hier durchgeführten elektronenoptischen Untersuchungen an Aorten von Hunden im Alter von 6 Monaten bis zu 15 Jahren haben bei älteren und alten

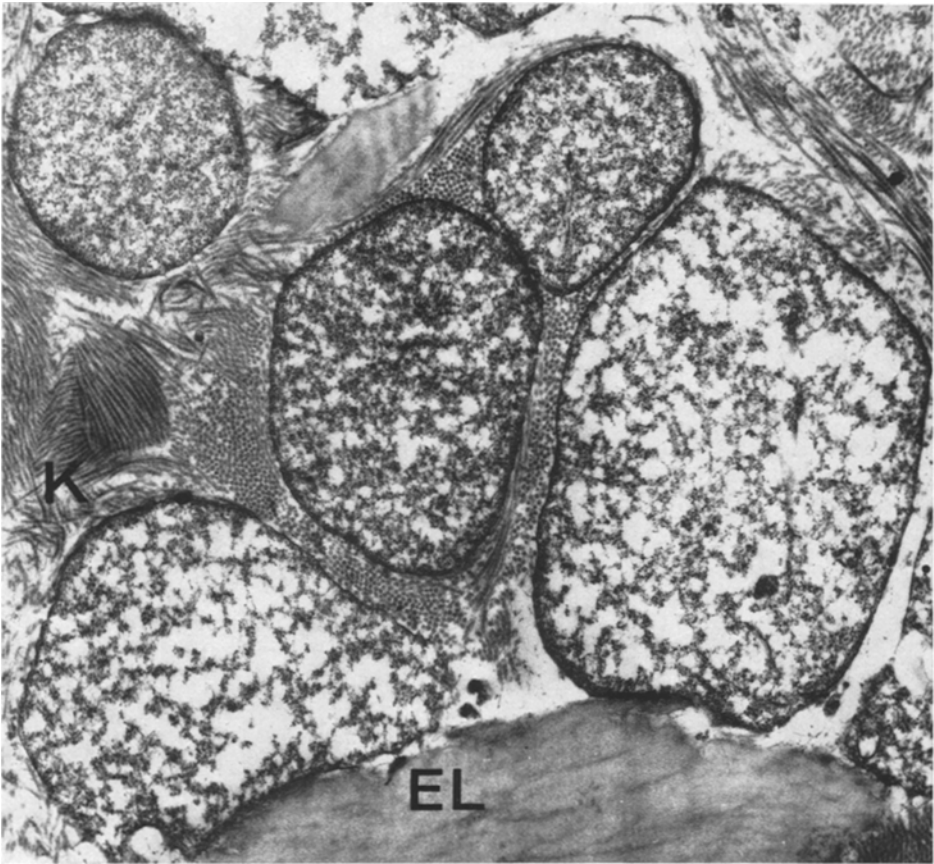


Abb. 5. Fokale Anhäufung zahlreicher 'ghost bodies' (*Gb*), die neben bündelförmig angeordneten Kollagenfibrillen (*K*) als einzige membranbegrenzte Gebilde den interlamellären Raum ausfüllen. *EL* elastische Lamelle. Vergr. 11100×

Hunden ein vermehrtes Auftreten sog. 'ghost bodies' ergeben, die teilweise als einzige membranbegrenzte Gebilde den Raum zwischen den elastischen Lamellen ausfüllen. Sie sind morphologisch und funktionell sicher nicht identisch mit den elastico-muskulären Kontaktpunkten (sog. bobbins) (Keech, 1960), die als enge Verbindungsstellen von glatten Muskelzellen und elastischen Lamellen imponieren. Die glatten Muskelzellen in der Aorta alter Hunde sind zahlenmäßig reduziert, sie erscheinen klein und atrophisch. Die elektronenoptisch faßbaren Zeichen der Atrophie entsprechen denen, die allgemein bei atrophischen Vorgängen beobachtet werden: Verkleinerung des Zelleibes, Verdichtung des Cytoplasma, Verminderung der Organellen bzw. Abnahme ihrer morphologisch faßbaren Aktivitätsmerkmale (McGee und Ashworth, 1963; David, 1967; Takebayashi *et al.*, 1971, 1972).

Zahlreiche glatte Muskelzellen in der Media von Aorten älterer und alter Hunde lassen neben Plasmalemminvaginationen blasenförmige Cytoplasmaaus-

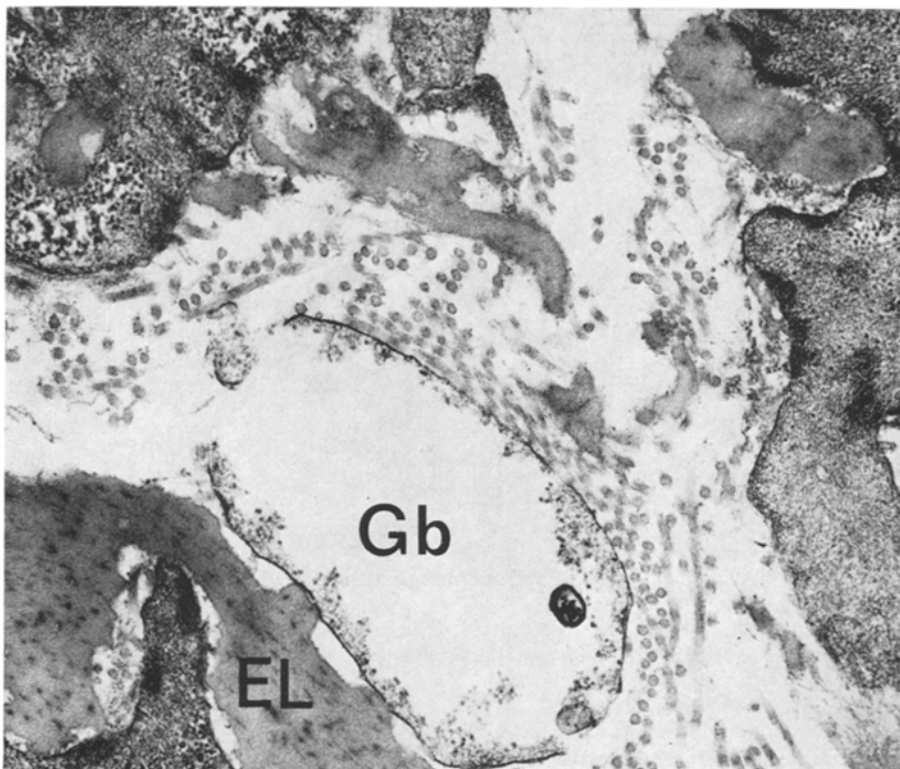


Abb. 6. 'Ghost body' (*Gb*) im Stadium der Auflösung mit diskontinuierlicher Membran und weitgehend entleertem Inhalt. *EL* elastische Lamelle. Vergr.: 27400×

stülpungen erkennen. Gelegentlich bestehen nur noch flaschenhals- bzw. stiel- förmige schmale Cytoplasmabrücken zwischen den so durch Abschnürung ent- stehenden 'ghost bodies' und dem eigentlichen Zelleib. Vereinzelt Muskelzellen weisen im Verlauf ihrer gesamten Oberfläche pilzförmige Ausstülpungen auf, so daß der restliche, eigentliche Zelleib nur noch einen Bruchteil des ursprünglichen Zellvolumens ausmacht. Dementsprechend können kleine atrophisch erscheinende glatte Muskelzellen beobachtet werden, die von 'ghost bodies' umgeben sind. Im Gegensatz zu den glatten Muskelzellen sind die 'ghost bodies' nicht von einer Basalmembran umgeben. Die Basalmembran scheint sich in Höhe der stielförmigen Cytoplasmaabschnürungen aufzulösen, während die Plasmamembran der glatten Muskelzellen kontinuierlich in die der Abschnürungsareale übergeht. Im Bereich des Übergangs läßt sich auch eine deutliche Veränderung der cytoplasmatischen Grundstruktur nachweisen. Im Gegensatz zu dem Myofibrillen enthaltenen Cytoplasma der glatten Muskelzellen scheint der cytoplasmatische Inhalt der Abschnürung elektronenoptisch fein granuliert bzw. amorph. Nach Ab- schnürung der 'ghost bodies' umgibt die Basalmembran kontinuierlich die atro- phisch werdende glatte Muskelzelle. In späteren Stadien werden Diskontinuitäten

der die 'ghost bodies' umgebenden Plasmamembran nachweisbar, während der Raum innerhalb der 'ghost bodies' elektronenoptisch leer erscheint.

Das Auftreten von 'ghost bodies' in Aorten alternder Hunde kann möglicherweise als morphologisches Zeichen einer zunehmenden energetischen Insuffizienz gewertet werden. Im Verlauf des Alterungsprozesses der arteriellen Gefäße kommt es zu einer Vermehrung von Mucopolysacchariden und kollagenem Bindegewebe (Flora *et al.*, 1967; Knieriem und Hueber, 1970), wodurch der durch die Abnahme elastischen Gewebes eintretende Elastizitätsverlust im Sinne einer Reparation kompensiert werden soll (Kapal, 1958; Lopes de Faria, 1968). Dieser Vorgang bedingt ein Auseinanderrücken der Zellen und damit eine Zunahme der Transitstrecken (Hauss *et al.*, 1969), die von entscheidender Bedeutung für die Ernährung der Gefäßwandzellen ist. Infolge der Alteration der Transitstrecke gelangen die glatten Muskelzellen in eine kritische metabolische Situation (Thoenes, 1964), die sie durch Abtrennung von Teilen ihres Cytoplasmas zu kompensieren versuchen.

Literatur

- Cavallero, C., Spangnoli, L. G., Di Tondo, U.: Early mitochondrial calcifications in the rabbit aorta after adrenaline. *Virchows Arch. Abt. A* **362**, 23—39 (1974)
- David, H.: Elektronenmikroskopische Organpathologie. Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit 1967
- Flora, G., Dahl, E., Nelson, E.: Electron microscopic observations on human intracranial arteries. Changes seen with ageing and atherosclerosis. *Arch. Neurol. (Paris)* **17**, 162—173 (1967)
- Hauss, W. H., Schmitt, G., Junge-Hülsing, G., Themann, H., Kienecker, B.: Zur Pathogenese der hypertoniebedingten Gefäßsklerose. *Z. Kreisl.-Forsch.* **58**, 61—79 (1969)
- Kapal, E.: Physiologie der Altersveränderungen der Gefäße. *Nauheim. Fortbildungslehrgänge* **23**, 31—40 (1958)
- Keech, M. K.: Electron microscope study of the normal rat aorta. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 533—538 (1960)
- Knieriem, H.-J., Hueber, R.: Quantitative morphologische Untersuchungen an der Aorta des Menschen. *Beitr. path. Anat.* **140**, 280—297 (1970)
- Lazzarini Robertson, A., Jr., Butkus, A., Ehrhart, L. A., Lewis, L. A.: Experimental atherosclerosis in dogs. *Atherosclerosis* **15**, 307—325 (1972)
- Lopes de Faria, J.: Role of wall factors in the pathogenesis of coronary atherosclerosis. *J. Atheroscler. Res.* **8**, 291—302 (1968)
- McGee, W. G., Ashworth, C. T.: Fine structure of chronic hypertensive arteriopathy in the human kidney. *Amer. J. Path.* **43**, 273—299 (1963)
- Takebayashi, S., Gröbe, H., v. Bassewitz, D. B., Themann, H.: Feinstrukturelle Aspekte der Gefäßveränderungen bei Homocystinurie. *Virchows Arch. Abt. A* **354**, 44—51 (1971)
- Takebayashi, S., Kamio, A., Kubota, I., Taura, S.: Ultrastructural aspects of the role of media-smooth muscle cells in arteriosclerosis of man and animals. *Acta path. jap.* **22**, 697—721 (1972)
- Thoenes, W.: Mikromorphologie des Nephron nach temporärer Ischämie. *Zwängl. Abhandl. Geb. norm. pathol. Anat.* **15** (1964)
- Thomas, W. A., Florentin, R. A., Nam, S. C., Kim, D. N., Jones, R. M., Lee, K. T.: Preproliferative phase of atherosclerosis in swine fed cholesterol. *Arch. Path.* **96**, 621—643 (1968)

Prof. Dr. H. Themann
Lehrstuhl für Medizinische
Cytobiologie der Universität
D-4400 Münster/Westf.
Westring 3
Bundesrepublik Deutschland