

Vergleichende fermenthistochemische Untersuchungen am normalen Herzmuskel, bei Koronarinsuffizienz und Herzinfarkt *

L. H. Roesch**, J. Kuch*** und H.-J. Knieriem

Pathologisches Institut der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Meessen)

Eingegangen am 25. November 1975

Comparative Enzyme-Histochemical Studies on Normal Myocardium, in Cases
of Coronary Insufficiency and Myocardial Infarction

Summary. Comparative histochemical studies with Tetrazolium salt solutions were performed on 25 human and 3 canine hearts. After perfusion of whole hearts with Tetrazolium solutions extensive unstained areas were observed which proved to be artefacts, since they reacted positively after incubation of the heart slices. The perfusion method of Lichtig, Feldman, Glagov and Wissler (1973) which was proposed for macroscopic and microscopic diagnosis of ischemic cardiac lesions was not found to be suitable for the identification of microcirculatory disturbances. The usual incubation method, however, proved to be useful for the macroscopic localization of recent myocardial infarcts.

Key words: Tetrazolium salts — Myocardial ischemia and infarcts — Diagnosis.

Zusammenfassung. Bei insgesamt 25 menschlichen Herzen und 3 Hundeherzen wurden vergleichende fermenthistochemische Untersuchungen mit Tetrazoliumsalzlösungen durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß nach Perfusion der ganzen Herzen mit Tetrazoliumlösungen ausgedehnte artefizielle helle Bezirke beobachtet wurden, die sich bei nachfolgender Inkubation der Großschnitte positiv anfärbten. Die von Lichtig, Feldman, Glagov und Wissler (1973) vorgeschlagene Perfusionsmethode eignet sich daher nach unseren Ergebnissen nicht für die gleichzeitige makroskopische und histologische Beurteilung von ischämischen Herzmuskelveränderungen oder Folgen agonaler Zirkulationsstörungen. Dagegen hat sich die einfache Inkubation von Herzmuskelgewebe zum makroskopischen Nachweis von frischen Infarkten bewährt.

Einleitung

Fermenthistochemische Untersuchungen mit Tetrazoliumsalzen sind vielfach für den Nachweis ganz frischer ischämischer Herzmuskelnekrosen vorgeschlagen worden (Andersen und Fischer-Hansen, 1974; Brody *et al.*, 1967; Heilmann *et al.*, 1972; Jestädt und Sandritter, 1959; Nachlas und Shnitka, 1963; Seidler und Kunde, 1969; Stofer, 1964; Walther *et al.*, 1969). Dabei geht man davon aus, daß im ischämisch geschädigten Herzmuskel infolge des Enzymverlustes der Mitochondrien eine Reduktion der Tetrazoliumsalze in Anwesenheit von NAD und Substraten (β -Hydroxybuttersäure oder Natriumsuccinat) nicht mehr stattfinden

* Mit Unterstützung durch den Sonderforschungsbereich 30 „Kardiologie“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

** Stipendiat des DAAD aus dem Pathologischen Institut der Universität in Porto Alegro.

*** Stipendiat des DAAD von der Kardiologischen Abteilung der Medizinischen Akademie in Warschau.

kann. Somit kann es auch nicht zum Niederschlag unlöslicher Formazangranula in den Gewebsproben kommen; die ischämisch geschädigten Gewebsbezirke bleiben daher ungefärbt.

Von Wissler und Mitarbeitern (Lichtig *et al.*, 1973) wurde vorgeschlagen, das ganze Herz mit entsprechenden Tetrazoliumsalzlösungen zu perfundieren, um auch bei der nachträglichen histologischen Untersuchung zwischen normalem Herzmuskel und frischen Herzmuskelnekrosen unterscheiden zu können.

Wir haben diese Untersuchungsmethode auf Anregung von Herrn Professor Meessen einer kritischen Prüfung unterzogen, inwieweit es möglich ist, nicht nur größere Infarktzentren, sondern auch ischämische Bezirke oder kleinere Herzmuskelnekrosen bei akuter Koronarinsuffizienz nachzuweisen zu können.

Material and Methodik

Beobachtungsgut. Wir haben bei der Obduktion insgesamt 25 Herzen von 19 Männern und 6 Frauen im Alter von 16—87 Jahren entnommen und untersucht. Eine Übersicht über die von uns ausgewählten Fälle mit Angabe des Alters, des Geschlechtes und des Hauptleidens findet sich in Tabelle 1.

Ferner wurden die Herzen von 3 Hunden untersucht, nämlich von einem gesunden Hund, von einem Hund, bei dem eine experimentelle Lymphostase des Herzens durch Unterbindung der abführenden suprakardialen Lymphgefäße erzeugt wurde und von einem dritten Hund, bei dem eine akute Herzinsuffizienz experimentell durch Gabe von β -Blocker und Barbiturat erzeugt wurde. Bei den Herzen, die bei der Obduktion 12—72 Std nach dem Tode entnommen wurden, waren die Leichen vorher im Kühlraum bei +4° C aufbewahrt worden. Die Herzen der Hunde wurden unmittelbar nach der Tötung entnommen und untersucht.

Methodik. In allen Fällen wurde eine postmortale Koronarangiographie und ausgedehnte histologische Untersuchungen des Herzmuskels durchgeführt. In 13 Fällen wurde von uns eine Perfusion der Koronararterien mit Tetrazoliumlösung und in 23 Fällen eine Inkubation der 1,0—2,0 cm dicken Herzscheiben vorgenommen. 12mal haben wir beide fermenthisto-chemischen Untersuchungsmethoden, d.h. sowohl die Perfusion als auch die Inkubation, angewandt.

1. Fermenthistochemie

Für den Enzymnachweis haben wir 2 verschiedene aber gleichwertige Verfahren benutzt: einmal eine Lösung A aus Tri-Nitro-Blau-Tetrazolium (TNBT 1,0 g), Sörensen's Phosphat-Buffer (pH 7,4; 2000 ml), Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD 0,1 g) und DL- β -Hydroxybuttersäure (20 g) und zweitens eine Lösung B, die aus Neotetrazoliumchlorid (5 mg/ml; 300 ml), Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD 15 mg), Sörensen's Phosphat-Buffer (pH 7,4 1; M 300 ml) Bernsteinsäure-Na₂-salz (8,1 g; 0,1 M) und Aqua dest. 2400 ml — hergestellt wurde. Nach der Entnahme aus dem Thorax wurden die Herzen gewaschen, gereinigt und gewogen; die Koronararterien wurden kanüliert und mit physiologischer Kochsalzlösung gespült.

A. Perfusion. Die Herzkranzarterien wurden während 45 min unter einem konstanten Druck von 90 mmHg mit einer der Tetrazoliumlösungen bei +37° C perfundiert. Dabei legten wir die Herzen entweder in physiologische Kochsalzlösung, aber in einigen Fällen direkt in Tetrazoliumlösung von +37° C.

B. Inkubation. Nach der Perfusion wurde von den Herzen ein Koronarangigramm angefertigt (Methodik vgl. nächsten Abschnitt). Danach wurden die Herzen in 1,0—2,0 cm dicke Scheiben von der Spitze bis zur Basis zerlegt und erneut in eine Tetrazoliumlösung gelegt und bei +37° C inkubiert, wobei die Scheiben intermitterend bewegt wurden. Zur Dokumentation haben wir vor und

Tabelle 1. Übersicht über die untersuchten Herzen

S.Nr.	Alter in Jahren	Ge- schlecht	Histochemie		Koronar- sklerose (Angiogr.)	Hauptleiden	Gruppe
			Perf.	Inkub.			
1107/74	61	♂	+	0	++	Plasmocytom Herzinfarkt	Inf.
1145/74	78	♂	+	0	++	Harnblasen-Carcinom Koronarsklerose	K.I.
1154/74	27	♂	+	--	--	Meningoem	Ko.
1162/74	72	♂	++	+	+++	Harnblasen-Sarkom Herzinfarkt	Inf.
1169/74	35	♂	++	+	--	Pulmonale Hypertonie	K.I.
1179/74	16	♂	+	-	--	Unfall-Trauma	Ko.
1182/74	35	♂	++	+	++	Diabetes mellitus Niereninsuffizienz	K.I.
1202/74	70	♂	0	+	++	Hypertonie Hirnerweichung	K.I.
1213/74	65	♀	0	+	+++	Herzinfarkt	Inf.
1231/74	38	♂	++	+	++	Lippencarcinom	K.I.
1242/74	26	♀	0	-	--	Bolustod	Ko.
1250/74	44	♀	0	--	+	Akusticus-Neurinom	Ko.
1266/74	49	♂	0	+	+++	Diabetes mellitus	Inf.
1274/74	34	♂	0	+	--	Oligodendroliom	Ko.
1285/74	60	♀	0	+	+++	Allgemeine Arteriosklerose	Inf.
1303/74	64	♀	0	-	+	Hirntumor	Ko.
1316/74	69	♂	0	+	++	Harnblasen-Carcinom Koronarsklerose	K.I.
1335/74	62	♂	0	+	+++	Allgemeine Arteriosklerose Herzinfarkt	Inf.
1378/74	62	♂	0	+	++	Allgemeine Arteriosklerose Herzinfarkt	Inf.
868/75	64	♂	+	-	+++	Subdurales Haematom	K.I.
937/75	66	♀	++	+	+++	Allgemeine Arteriosklerose Herzinfarkt	Inf.
949/75	87	♂	++	+	+++	Allgemeine Arteriosklerose Herzinfarkt	Inf.
977/75	72	♂	++	+	+++	Allgemeine Arteriosklerose Herzinfarkt	Inf.
990/75	64	♂	++	+	+++	Diabetes mellitus Herzinfarkt	Inf.
1014/75	31	♂	+	-	-	Meningo-encephalitis	Ko.
Hund 1/74			+	-		Akute Herzinsuffizienz	H 1
Hund 2/74			+	-		Kontrolltier	H 2
Hund 3/75			+	-		Akute Lymphostase des Herzens	H 3

♂ = männlich, ♀ = weiblich, Ko. = Kontrolle, K.I. = Koronarinsuffizienz, Inf. = Infarkt.

nach der Inkubation von den Großschnitten Farb- und Schwarz-Weiß-Fotos angefertigt.

2. Postmortale Koronarangiographie

Nach der Perfusion mit Tetrazoliumlösung haben wir die Koronararterien mit ca. 3 ccm Barium-Sulfat (BaSO_4) in warmer, wässriger Lösung unter konstantem Druck von 90 mmHg gefüllt, wobei die Herzen wiederum in einem Kochsalzlösungsbad von $+37^\circ\text{C}$ suspendiert wurden. Anschließend erfolgte die Röntgenaufnahme bei 53 kV im antero-posterioren Strahlengang.

3. Histologie

Nach der Inkubation in Tetrazoliumlösung wurden die Herzmuskelscheiben in 10% Formalinlösung fixiert. Die Gewebsblöcke wurden dann in Paraffin eingebettet, die Großschnitte der Herzen mit Hämatoxylin-Eosin, dem Elastica-van-Gieson Gemisch sowie in einzelnen Fällen auch mit der Hämatoxylin-Fuchsin-Pikrinsäure-(HBFPA)-Lösung nach Lie *et al.*, (1971) gefärbt und histologisch untersucht.

4. Morphometrie

In zwei Fällen wurden mit Hilfe der projizierten Farbdias die Anteile der verschiedenen fermenthistochemisch dargestellten und nicht angefärbten Bezirke der Großschnitte mit Hilfe des Kompensations-Planimeter der Fa. Coradi planimetrisch bestimmt. Diese Werte wurden mit den ebenfalls planimetrisch ermittelten Anteilen der an den entsprechenden Schnittpräparaten histologisch überprüften Nekrosebezirke verglichen.

Ergebnisse

Die von uns untersuchten Fälle haben wir in folgende 3 Gruppen eingeteilt: Kontrollfälle ohne Herzerkrankung (Freudenberg *et al.*, 1974); Fälle mit akuter oder chronischer Koronarinsuffizienz Freudenberg *et al.*, 1974 und Fälle mit frischem oder älterem Herzinfarkt (Hecht, 1970).

1. Kontrollgruppe ohne Herzerkrankung

Diese Gruppe besteht aus 7 Fällen (4 Männer und 3 Frauen) im Alter von 16—64 Jahren, von denen wir als Beispiel den folgenden Fall ausgewählt haben:

S. Nr. 1179/74 H.J.M. 16 J. M. Klinische Angaben: Einen Tag vor dem Tod schweres Kopftrauma bei Unfall mit einem Motorrad. 10 min später im Krankenhaus Atemstillstand und Intubation. Nach einigen Minuten wieder Spontanatmung. 2 Std später erneuter Atemstillstand, deswegen künstliche Beatmung. Null-Linie im EEG.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Ausgedehntes subdurales Hämatom. Filmartige subarachnoidale Blutungen über beiden Großhirnhemisphären. Rindenprellungsherde im Bereich der Occipitallappen bds. Hirnoedem. Herzgewicht 350 g.

Postmortales Koronarangiogramm: Normaler Versorgungstyp. Die Gefäße sind bis in die Peripherie gut mit Kontrastmittel dargestellt (Abb. 1).

Fermenthistochemie: Bei der Perfusion ausgedehnte, fleckförmige, nicht angefärbte Bezirke in allen Wandabschnitten beider Herzkammern, vorwiegend

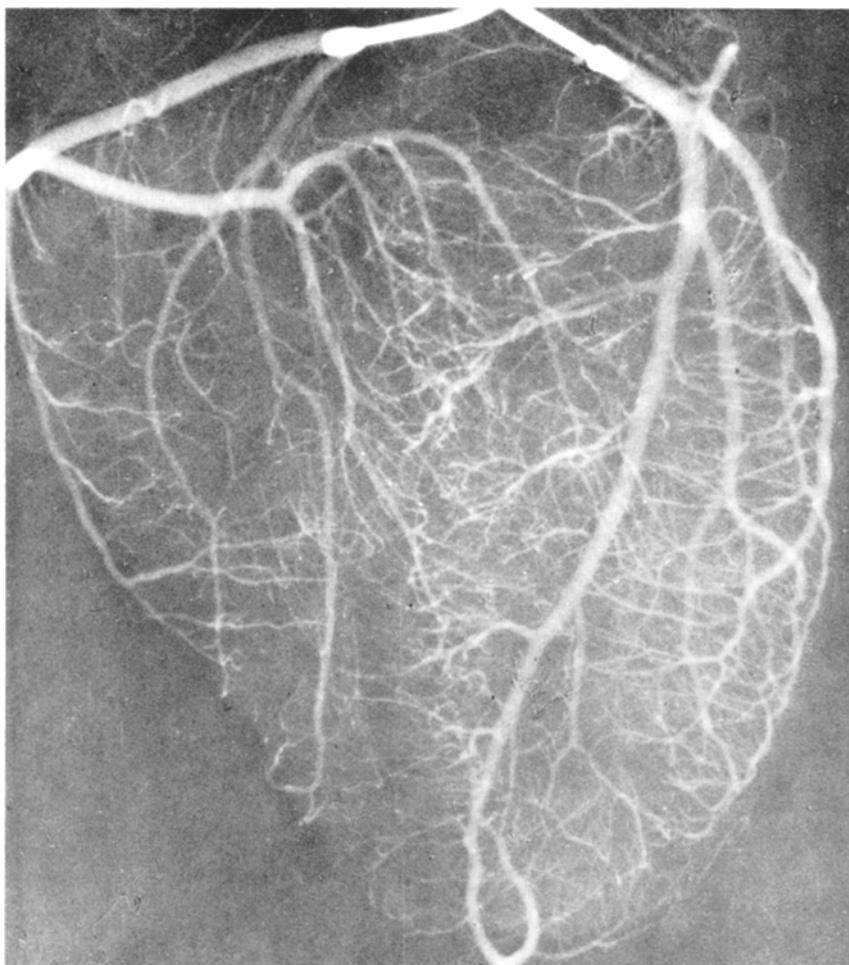


Abb. 1. S. Nr. 1179/74 16 J. männl. Postmortales Koronarangiogramm mit guter Darstellung der zarten epikardialen und intramuralen Koronararterienäste

aber links ventrikulär (Abb. 2a). Nach der Inkubation haben sich alle diese Bezirke dunkelblau angefärbt (Abb. 2b).

Histologische Befunde: Die Gefäße zeigen eine zarte und glatte Intima. Unregelmäßig verteilte und unterschiedlich dichte Formazangranula bei sonst normalem Herzmuskel. Keine Herzmuskelnekrosen.

2. Herzen mit akuter oder chronischer Koronarinsuffizienz

Diese Gruppe besteht aus 7 Fällen (7 Männer) im Alter von 35—78 Jahren, von denen wir als Beispiel den folgenden Fall ausgewählt haben:

S.Nr. 1231/74 H. S. 38 J. M. Klinische Angaben: 1968 Operation eines Lippen-carcinoms. 1973 Nachweis von Tumorzellen im Liquor. Tod bei zunehmendem Coma und Aspirationspneumonie.

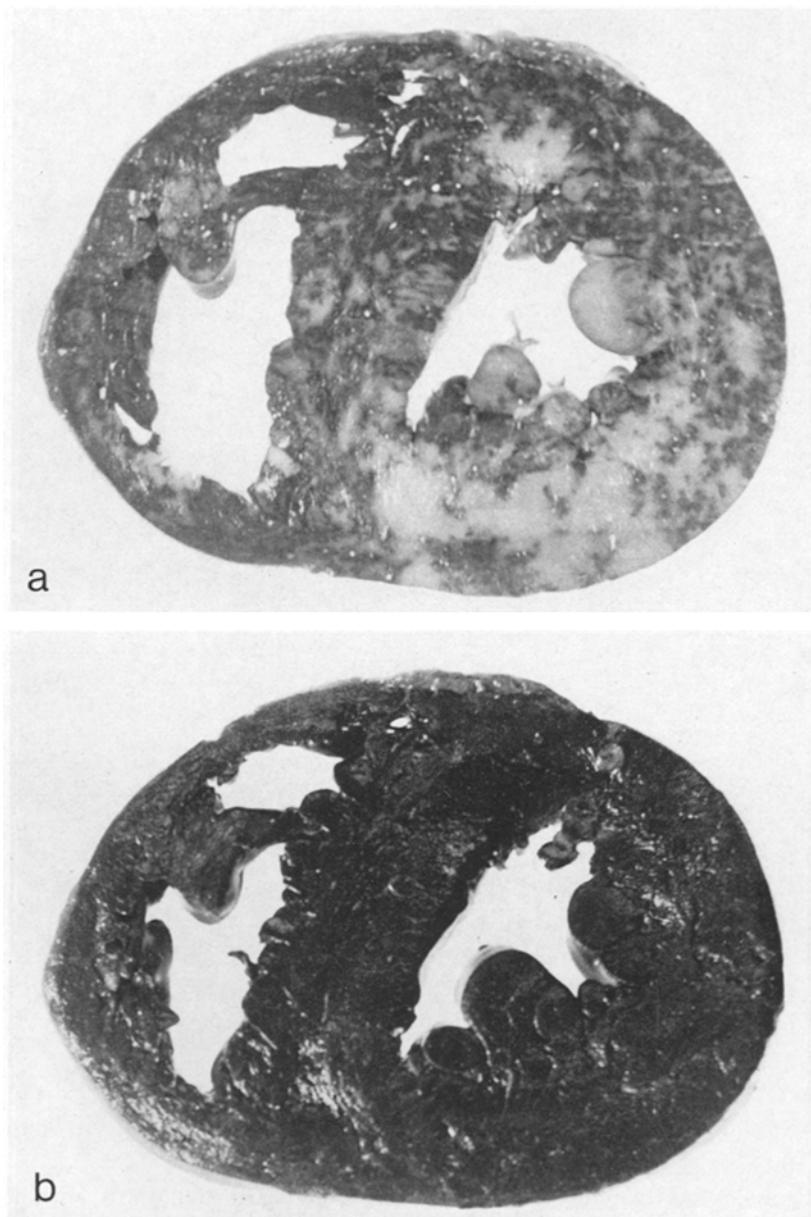


Abb. 2a und b. S. Nr. 1179/74 16 J. männl. Vergleichende Darstellung der beiden ferment-histochemischen Methoden (a) nach Perfusion mit großen, irregulären, nicht angefärbten Bezirken und (b) der gleiche Schnitt nach zusätzlicher Inkubation vollständig angefärbt

Pathologisch-anatomische Diagnose: Carcinommetastasen im Großhirnschenkel, der Vierhügelplatte und in der Medulla oblongata rechts. Hydrocephalus internus. Schwere allgemeine Arteriosklerose. Stenosierende Koronararterien-sklerose. Herzgewicht 410 g.

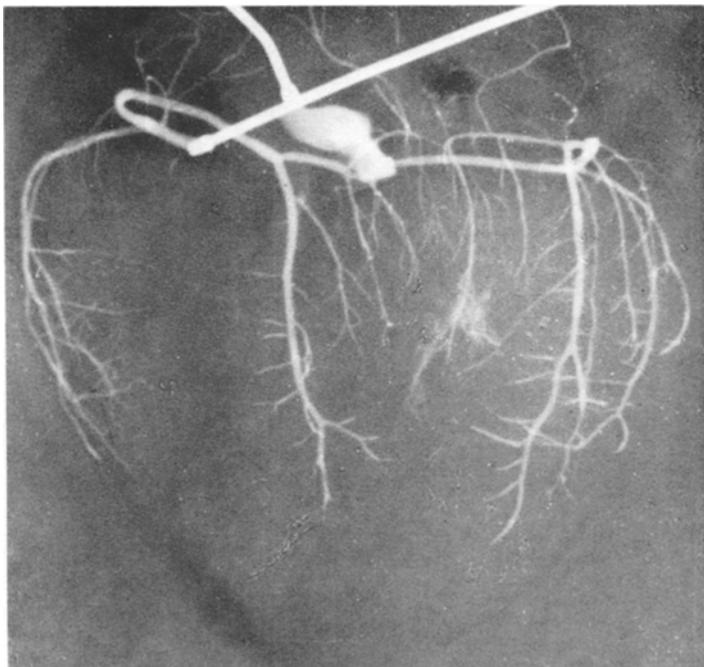


Abb. 3. S. Nr. 1231/74 38 J. männl. Postmortales Koronarangiogramm mit Darstellung sehr kleiner enger epikardialer Koronararterienäste. Mangelnde Füllung der intramuralen Äste bei Koronarsklerose

Postmortales Koronarangiogramm: Normaler Versorgungstyp. Die Gefäßlumina sind eng und zeigen ein unregelmäßiges Profil. Die kleinen peripheren Gefäßäste sind nicht dargestellt. Im Bereich der Herzspitze ein umschriebener avaskulärer Bezirk (Abb. 3).

Fermenthistochemie: Bei der Perfusion haben sich im Bereich des Septums, aber auch im rechten Ventrikel sowie der Vorder-, Seiten- und Hinterwand der linken Herzkammer, große Ausfälle in der Farbreaktion gezeigt (Abb. 4a), die fast alle bei der nachfolgenden Inkubation bis auf einzelne kleinere Nekrosen in der Vorder- und Hinterwand des linken Ventrikels verschwanden (Abb. 4b).

Histologische Befunde: Mittelgradige Hypertrophie der Herzmuskelfasern. Schwere periphere Koronararteriensklerose. Kleine disseminierte Herzmuskelnarben und umschriebene frische Herzmuskelnekrosen ohne leukocytäre Reaktion.

3. Gruppe der Herzinfarke

Diese Gruppe besteht aus 11 Fällen (8 Männern und 3 Frauen) im Alter von 49—87 Jahren, von denen wir als Beispiel die 2 folgenden Fälle ausgewählt haben:

S. Nr. 977/75 G. M. 72 J. M. Klinische Angaben: In der Vorgesichte ein alter Herzinfarkt und wiederholte pectanginöse Beschwerden. 2 Tage nach Prostatektomie wegen Adenomyomatose plötzliche Atemnot, retrosternale Schmerzen und Blutdruckabfall. Tod im akuten Herzversagen.

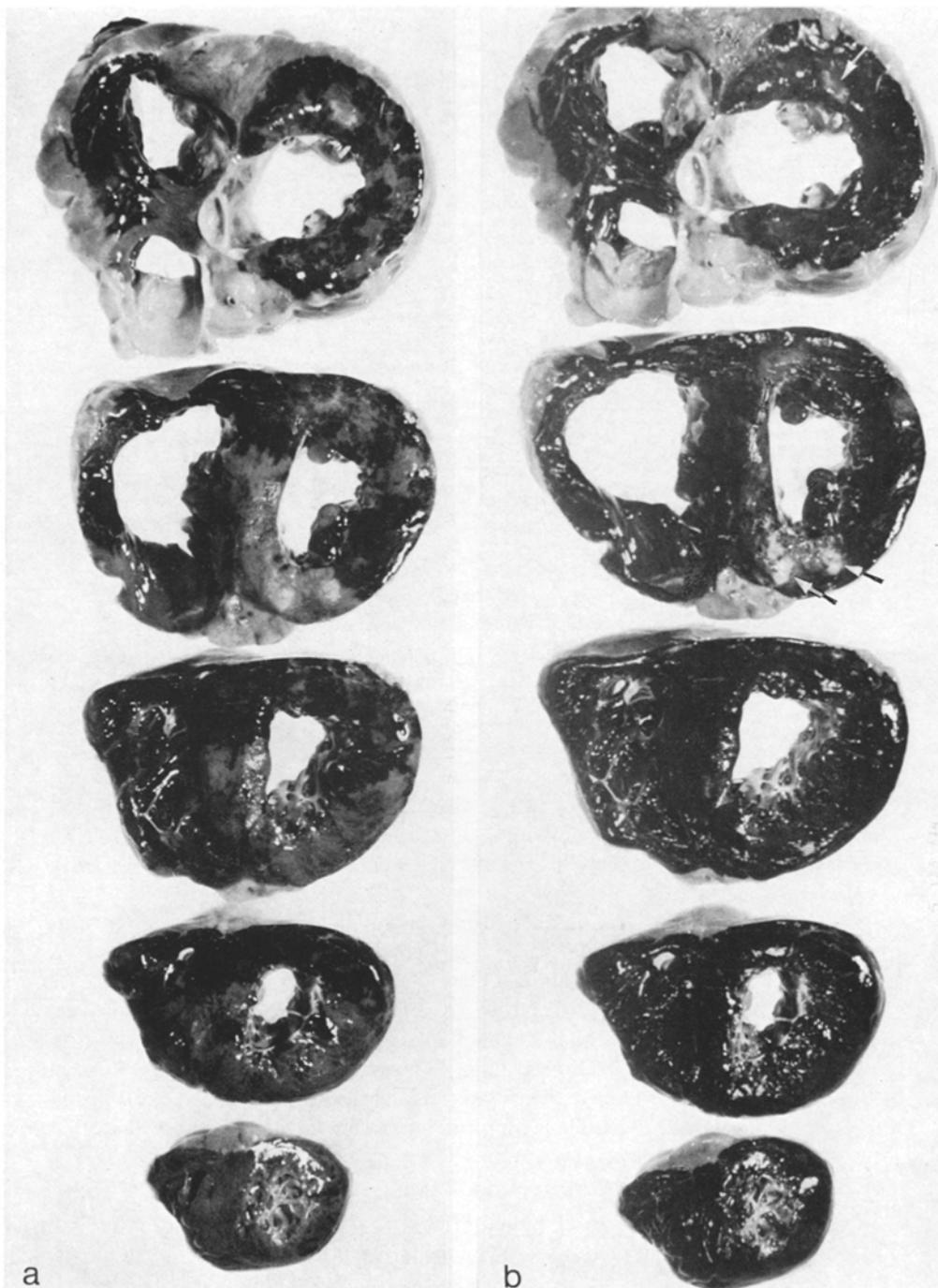


Abb. 4a und b. S. Nr. 1231/74 38 J. männl. Vergleichende Darstellung der beiden ferment-histochemischen Methoden (a) nach Perfusion mit großen, irregulären, nicht angefärbten Bezirken und (b) nach Inkubation der gleichen Schnitte mit Darstellung umschriebener Nekrosen im Bereich der Vorder- und Hinterwand (✓) des linken Ventrikels

Pathologisch-anatomische Diagnose: Schwere stenosierende Koronararteriensklerose. Mäßige Linksherzhypertrophie. Alte Infarktnarbe im Bereich der Seiten- und Hinterwand des linken Ventrikels. Frischere Herzmuskelnekrosen in den angrenzenden Gebieten mit Übergreifen auf die Vorderwand und das Kammerseptum.

Postmortales Koronarangiogramm: Unregelmäßige Kontrastmittelschatten mit multiplen Stenosen im Bereich des Ramus descendens anterior und des Ramus diagonalis der linken Koronararterie. Die kleinen peripheren Gefäßäste sind nur spärlich dargestellt. Größerer avaskulärer Bezirk im Bereich der Vorder-, Seiten- und Hinterwand des linken Ventrikels.

Fermenthistochemie: Nach der Perfusion sind große ungefärbte Bezirke — vorwiegend in der linken Herzkammerwand — zu erkennen (Abb. 5a). Diese Bezirke sind nach zusätzlicher Inkubation deutlich reduziert, obwohl noch ungefärbte Bezirke an der Seiten- und Hinterwand der linken Herzkammer und auch im Bereich des Septums nachzuweisen sind (Abb. 5b).

Histologische Befunde: Die epikardialen Koronararterien zeigen ausgeprägte, bis vollständig stenosierende Intimapolster, besonders in Ramus descendens anterior und Ramus diagonalis der linken Koronararterie. Mäßige Hypertrophie der Herzmuskelfasern. Ausgeprägte Vernarbung des subendokardialen Myokards des linken Ventrikels und der Trabekel und Papillarmuskeln (Abb. 5c). Frische Herzmuskelnekrosen in der Nachbarschaft der Narben, aber auch im Septum.

Morphometrie: Wir haben die ungefärbten Bezirke im Verhältnis zur Gesamtfläche der linken Kammerwand mit Hilfe der Farbdias der Großschnitte planimetrisch bestimmt. Die dabei gemessenen Flächenwerte betragen, von der Spitze bis zur Basis: 26; 38,5; 40,2; 31,2 und 6,2 %. Der Mittelwert beträgt 28,4 %.

S. Nr. 1335/74 E. B. 62 J. M. Klinische Angaben: Vor 3 Jahren Gallenblasen-Operation. Einige Tage vor dem Tod Schmerzen in der linken Brust. Herzrhythmusstörungen und Asystolie. Reanimation, Implantation einer Schrittmachersonde. 4 Tage vor dem Tod Sepsis. Tod in erneuter Asystolie.

Pathologisch-anatomische Diagnose: Allgemeine Arteriosklerose. Koronararteriensklerose mit thrombotischem Verschluß im proximalen Anteil des Ramus descendens anterior der linken Koronararterie. Ausgedehnter älterer Infarkt der gesamten Vorder- und Seitenwand und des Spitzenbereiches der linken Herzkammer mit Übergreifen auf die linke Hinterwand.

Postmortales Koronarangiogramm: Rechtsversorgungstyp. Kontrastmittelabbruch im Bereich des Ramus descendens anterior der linken Koronararterie. Lichtungseinengungen im Bereich der übrigen epikardialen Gefäße. Die peripheren Äste sind nur spärlich dargestellt (Abb. 6).

Fermenthistochemie: Die Inkubation zeigt ausgedehnte, schalenförmige, transmurale Farbausfälle in der gesamten Herzkammerwand des linken Ventrikels, außerdem kleinere helle Bezirke in der Seiten- und Hinterwand des linken Ventrikels der basisnahen Herzscheiben (Abb. 7).

Histologische Befunde: Im Bereich der Papillarmuskeln und der Trabekel kleine subendokardiale Fibrosierungen. Im Spitzenbereich eine umschriebene Vernarbung, zum Teil mit Resten eines Granulationsgewebes. Die gesamte Vorder- und Seitenwand des linken Ventrikels zeigt eine transmurale Infarktnekrose, die fast das gesamte Kammerseptum miterfaßt hat. Sehr schwere, hochgradig stenosierende, atheromatöse Koronararteriensklerose der großen und peripheren Äste.

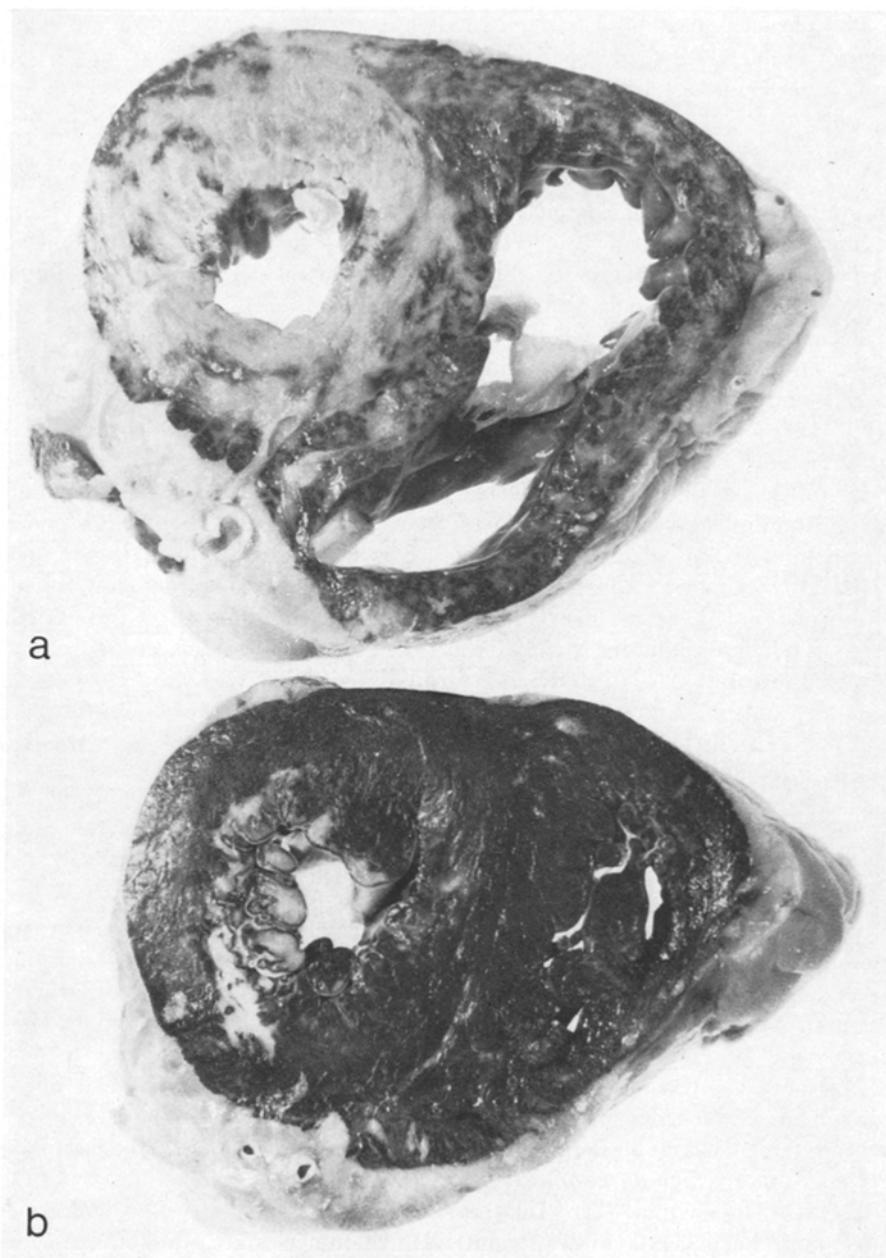


Abb. 5a—c. S. Nr. 977/75 72 J. männl. Vergleichende Darstellung der beiden fermenthisto-chemischen Methoden (a) nach Perfusion mit ausgedehnten hellen Bezirken, (b) nach Inkuba-
tion verbleiben nur subendokardial gelegene Infarktnekrosen und Narben im Bereich der
linken Seiten- und Hinterwand und (c) der entsprechende histologische Großschnitt zeigt die
hier schwarz gefärbten Narben. El. vG. Vergr. 1,3×

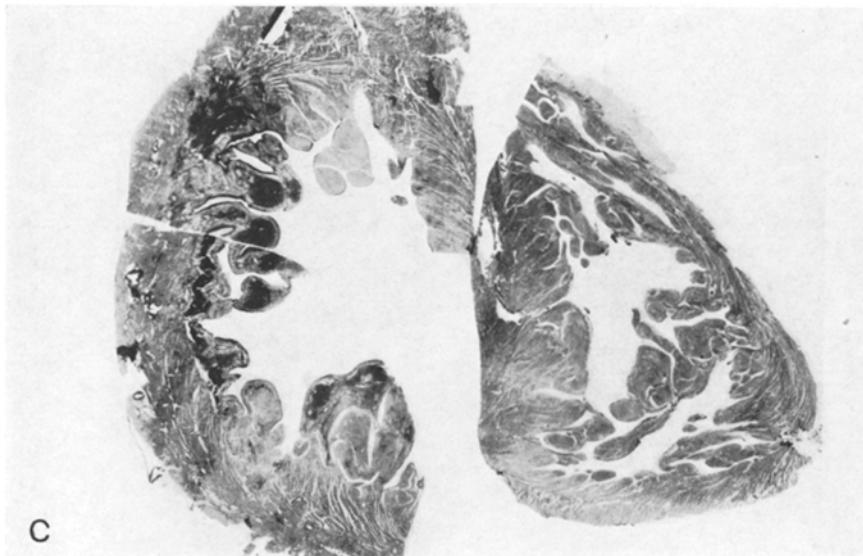


Abb. 5

Morphometrie: Wir haben Zahl und Ausdehnung der ungefärbten Bezirke des linken Ventrikels nach der Inkubation an den projizierten Farbdias der Herzscheiben planimetrisch bestimmt. Die dabei gemessenen Flächenwerte für die Nekroseareale lauten von der Spitze bis zur Basis: 61; 70; 62; 28 und 17%. Der Mittelwert beträgt 47,6%.

4. Gruppe der Hundeherzen

Nach Perfusion der Koronararterien mit Tetrazoliumlösung zeigten alle 3 zusätzlich untersuchten Hundeherzen unterschiedlich große helle Bezirke (Abb. 8a). Bei der nachfolgenden Inkubation der Herzscheiben färbte sich in allen Fällen das gesamte Myokard regelrecht dunkelblau an (Abb. 8b). Die histologischen Untersuchungen sowie die postmortalen Koronarangiographien zeigten keine pathologischen Veränderungen.

Diskussion

Die von Sandritter und Jestädt (1957) eingeführte und später vielfach modifizierte Inkubationsmethode mit Tetrazoliumsalzlösungen für die makroskopische Diagnose des frischen Herzinfarktes wurde von Lichtig, Feldman, Glagov und Wissler (1973) dahingehend geändert, daß die Tetrazoliumlösung durch die Koronararterien perfundiert wurde. Die Autoren nahmen dabei an, daß die Lokalisation ischämisch geschädigter Herzmuskelbezirke mit entsprechendem Enzymverlust auch bei der nachfolgenden histologischen Untersuchung sichtbar gemacht werden könnte. Wir haben deshalb an 25 menschlichen Herzen und 3 Hundeherzen beide Methoden — sowohl die herkömmliche Inkubations-, als auch die Perfusionsmethode — angewandt und ihre Ergebnisse kritisch gegenüber gestellt. Diese Untersuchungen wurden durch koronarangiographische und ausführliche histolo-

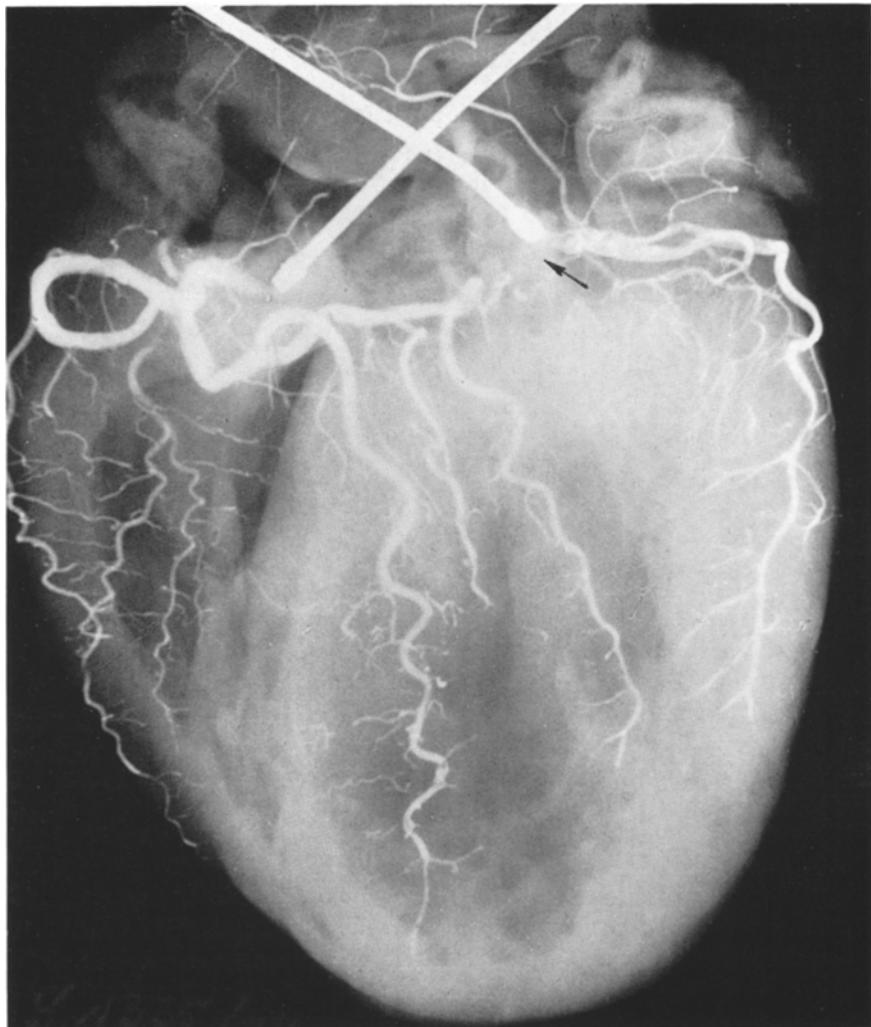


Abb. 6. S. Nr. 1335/74 62 J. männl. Postmortales Koronarangiogramm mit schwerer Koronarsklerose. Der Ramus descendens anterior infolge thrombotischen Verschlusses hat sich nicht gefüllt (↙)

gische sowie morphometrische Methoden ergänzt. Unser Untersuchungsgut haben wir in 3 verschiedene Gruppen unterteilt: Fälle ohne Herzerkrankung, Herzen mit den Zeichen einer akuten oder chronischen Koronarinsuffizienz und schließlich Fälle mit frischem oder altem Herzinfarkt.

Abb. 7. S. Nr. 1335/74 62 J. männl. Darstellung eines ausgedehnten frischen Vorder-, Seiten- und Septuminfarktes nach Inkubation mit Tetrazoliumlösung



Abb. 7

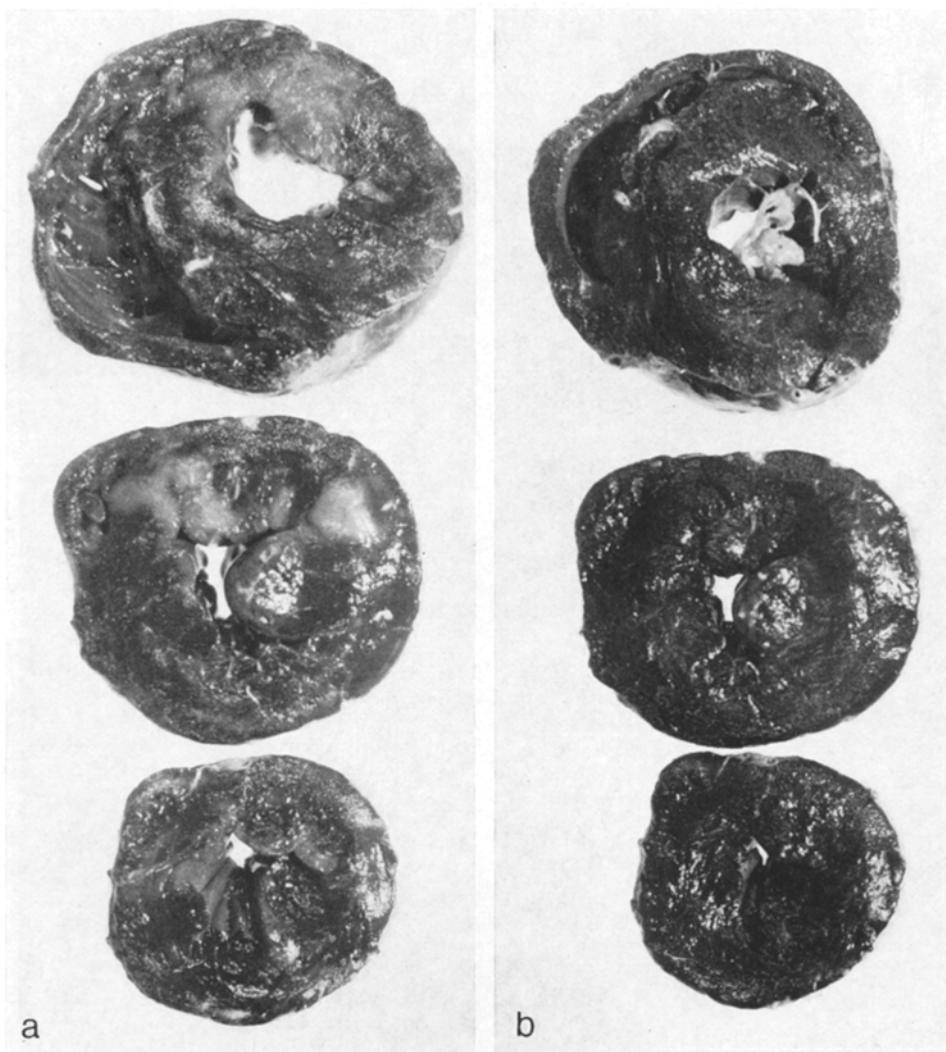


Abb. 8a und b. Normales Hundeherd. Vergleichende Darstellung der beiden fermenthistochemischen Methoden (a) nach Perfusion mit irregulären, hellen Aussparungen und (b) nach Inkubation der gleichen Herzscheiben mit vollständiger Anfärbung

In der Kontrollgruppe konnte in jedem Fall eine Erkrankung des Herzens ausgeschlossen werden. Bei einer 44- und bei einer 64jährigen Frau fand sich lediglich eine leichte Koronarsklerose. 6mal zeigte die fermenthistochemische Inkubationsmethode einen intakten Herzmuskel, die postmortale Koronarangiographie unauffällige Gefäße und die histologische Untersuchung einen normalen Herzmuskel. In einem Fall eines 34jährigen Mannes fand sich nach Operation eines Rezidives eines Oligodendrogioms bei der Inkubation eine mangelnde Anfärbung der linken Herzkammerwand, Teile des Kammerseptums und auch der Hinterwand des

rechten Ventrikels. Auch bei der histologischen Untersuchung ließen sich ganz frische Herzmuskelnekrosen — noch ohne leukocytäre Reaktion — nachweisen. Offenbar war es zu einer finalen Koronarinsuffizienz bei protrahiertem zentralem Regulationsversagen bei sonst nicht vorgeschädigtem Herzmuskel gekommen. Bei 3 Fällen ging der Inkubation eine Perfusion der Koronararterien mit Tetrazoliumlösung voraus. Dabei stellten sich bei der Perfusion große fleckförmige und unregelmäßig ungefärbte Bezirke dar, die sich überraschend bei der zusätzlich durchgeführten Inkubation der Herzscheiben nachträglich dunkelblau anfärbten und somit einen intakten, ungeschädigten Herzmuskel erkennen ließen.

In der Gruppe der Fälle mit Koronarsklerose und Koronarinsuffizienz haben wir Herzen mit unterschiedlich stark ausgeprägter, zum Teil subtotal stenosierender Koronararteriensklerose und disseminierte Herzmuskelnekrosen bzw. subendokardialen Herzmuskelnarben als Folge einer Koronarinsuffizienz untersucht. Bei einem 35jährigen Mann war die Koronarinsuffizienz Folge einer pulmonalen Hypertonie, bei einem anderen 35jährigen bestand ein schwerer juveniler Diabetes mit Niereninsuffizienz. Zweimal wurde nur eine Inkubation angewandt. Diese zeigte einzelne fleckförmige, nicht angefärbte Bezirke. Einmal wurden kleine Narben in den Papillarmuskeln beobachtet. Bei 4 Fällen wurde eine kombinierte Perfusion und Inkubation vorgenommen, wobei die Perfusion große, unregelmäßig helle Zonen erkennen ließ, die bei der nachfolgenden Inkubation sich wieder anfärbten oder sich bis auf kleinere Aussparungen reduzierten. In einem Fall wurde nur eine Perfusion mit Tetrazoliumlösung durchgeführt, wobei wiederum große Farbausfälle beobachtet wurden.

Bei den Herzen der dritten Gruppe mit Herzinfarkt fanden wir in jedem Fall eine schwere stenosierende Koronararteriensklerose. Außerdem bestanden frischere oder ältere thrombotische Verschlüsse einzelner Gefäßregionen. 8mal wurde auch klinisch der Verdacht auf einen Infarkt geäußert. In 3 anderen Fällen bestanden eine Angina pectoris, Herzrhythmusstörungen und einmal ein Zustand nach femoro-poplitealer Bypass-Operation. In allen Fällen wurden frische oder ältere Nekrosen oder Vernarbungen histologisch gesichert. Bei 10 Herzen hat die Inkubation der Herzscheiben unterschiedlich große, fleckförmige und unregelmäßige Farbausfälle gezeigt. In 5 Fällen, bei denen beide fermenthistochemischen Methoden angewandt wurden, ließen sich Farbausfälle sowohl bei der Perfusion als auch nach Inkubation nachweisen.

Für die makroskopische Diagnose einer größeren zusammenhängenden Herzmuskelnekrose im Sinne eines frischen Herzinfarktes haben sich die fermenthistochemischen Inkubationsmethoden mit Tetrazoliumsalzen bereits vielfach bewährt (Andersen und Fischer-Hansen, 1974; Brody *et al.*, 1967; Buss, 1970; Jestädt und Sandritter, 1959; Kunde und Seidler, 1971; Nachlas und Shnitka, 1963). Diese Methode kann bei sonst makroskopisch unauffälligem Herzmuskel auf eine akute ischämische Herzschädigung hinweisen. Schwierigkeiten in der Bewertung aber treten dann auf, wenn es sich um ischämischen Läsionen handelt, die erst kurz vor dem Tode eines Menschen (bis 6 Std) eingetreten sind. Bei Tieren kann dagegen eine Ischämie schon nach 35 Minuten durch eine Tetrazoliumlösung sichtbar gemacht werden (Buss, 1970; Nachlas und Shnitka, 1963; Stofer, 1964).

Die Farbunterschiede sind durch einen Enzymverlust bedingt, wobei bei kurz-andauernden Ischämien nur kleinere Farbabschwächungen auftreten, die makro-

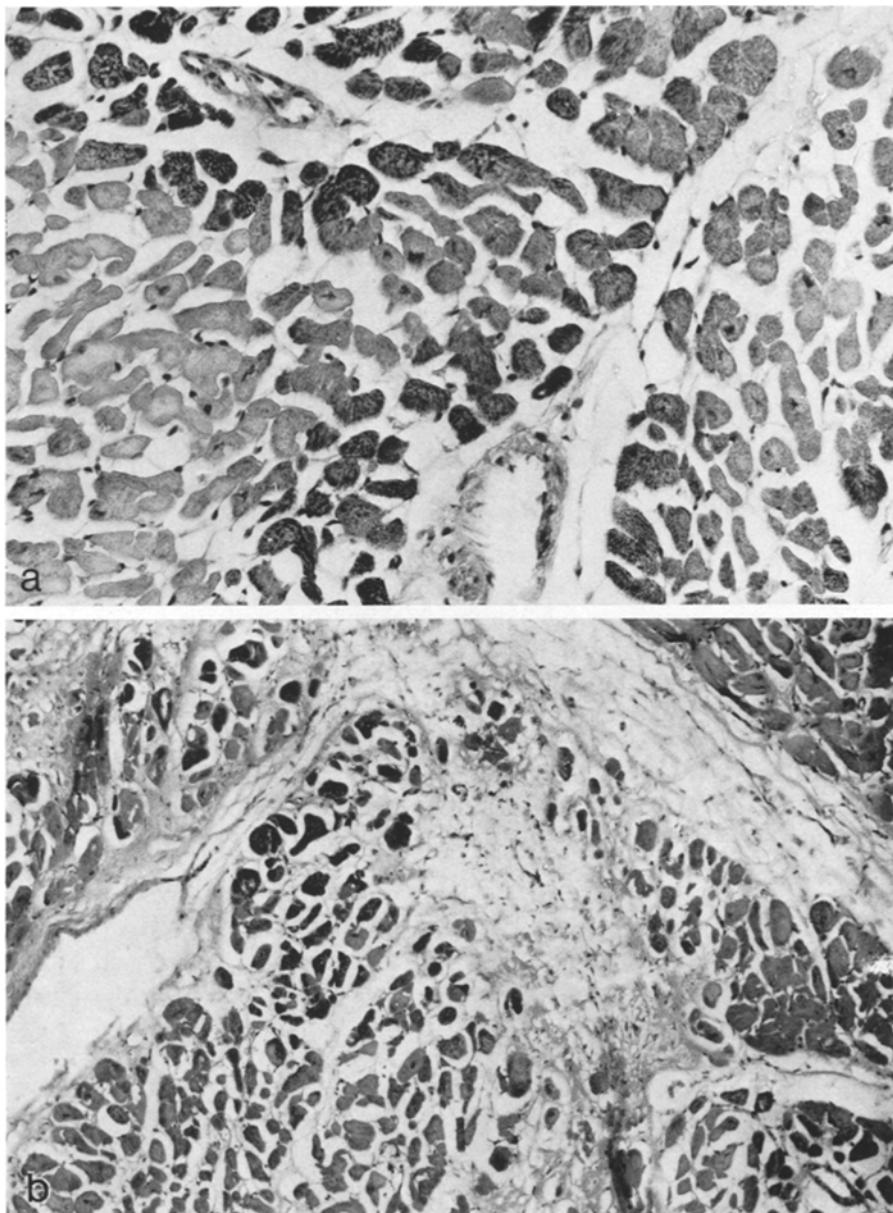


Abb. 9a—c. Histologische Darstellung der Formazangranula nach Perfusion (a) vorwiegend perivasal im normalen Herzmuskel, HE $200\times$, und (b) bei Infarktnarben, HE $80\times$. Die Niederschläge hier unregelmäßig nicht sicher gefäßbezogen. (c) Frische ischämische Herzmuskelnekrosen nach HBFP-A-Färbung, $200\times$

skopisch nicht sicher beurteilt werden können. Deshalb haben einzelne Autoren versucht, auch gleichzeitig eine mikroskopische Untersuchung vorzunehmen (Andersen und Fischer-Hansen, 1974; Cain und Assmann, 1960; Kunde und Seid-

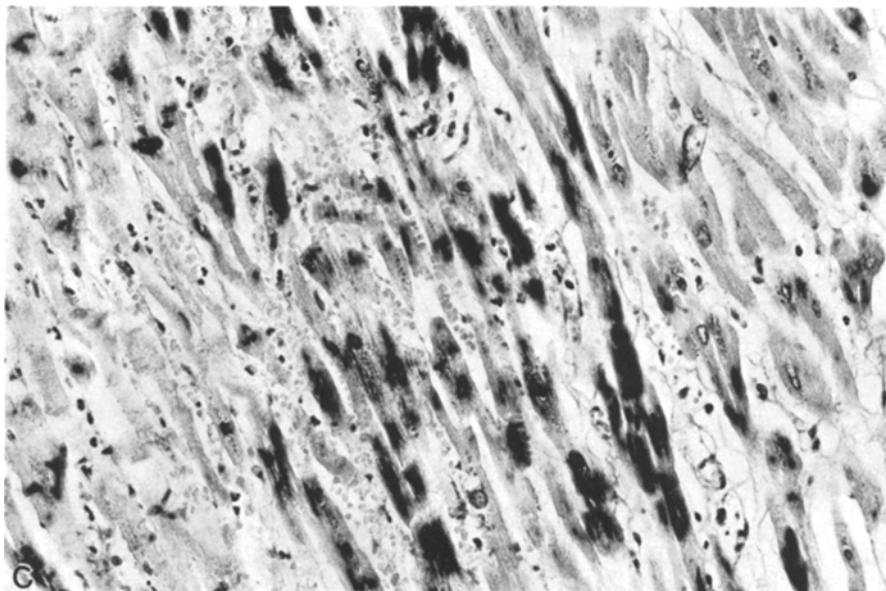


Abb. 9

ler, 1971; Lichtig *et al.*, 1973; Siedler und Kunde, 1969). Mit Hilfe der zusätzlichen Inkubation von Gefrierschnitten konnten auf diese Weise durch fehlende Niederschläge der Formazangranula in einzelnen Fällen frische ischämische Läsionen aufgedeckt werden. Die Methode von Lichtig *et al.* (1973) sollte den Vorzug haben, eine zusätzliche mikroskopische Beurteilung der histologischen Schnitte zu ermöglichen. Für diesen Zweck eignet sich jedoch nur die Lösung A, da beim Einbettungsprozeß nach Verwendung der Lösung B sich die Formazangranula wieder auflösen. Bei allen unseren Fällen, die mit Tetrazoliumsalzlösung perfundiert wurden, konnten wir in jedem Herzen, also auch bei Herzen mit regelrechten Koronararterien ohne Herzerkrankung und auch bei Hundeherzen große, unregelmäßige, unangefärbte Bezirke beobachten, die von echten ischämischen Läsionen nicht zu unterscheiden waren. Deshalb haben wir die Großschnitte dieser Herzen zusätzlich in Tetrazoliumlösung inkubiert. Dabei haben sich in allen Kontrollfällen und zum Teil auch bei Herzen mit Koronarsklerose diese hellen, ausgesparten Bezirke dunkelblau angefärbt. Wir müssen daher annehmen, daß es bei der Perfusionsmethode zu artefiziellen, falsch positiven Befunden gekommen war. Die histologische Kontrolluntersuchung der perfundierten Herzen zeigte dann auch eine fleckförmige Anordnung der Formazangranula vorwiegend in der Nachbarschaft kleiner Gefäße (Abb. 9a und b) während die weiter entfernt liegenden, ebenfalls normalen Zellen keine Granula enthielten. Ein Verschluß kleiner peripherer Gefäßäste durch Mikrothromben, Leichengerinnsel oder durch Endothelzellschwelungen (Poche *et al.*, 1969, 1971) konnten wir lichtmikroskopisch nicht nachweisen. Wir nehmen deshalb an, daß für die unterschiedliche Perfundierbarkeit des Herzmuskels — sowohl beim Menschen als auch beim Hund — zusätzliche haemodynamische Faktoren, z.B. die Perfusion der inneren Wandschichten durch

die Thebesischen Lakunen oder Venen bei der Kontraktion des schlagenden Herzens eine Rolle spielen, obgleich durch die Untersuchungen von Poche *et al.* (1969) auch am isolierten schlagenden Rattenherzen nicht perfundierbare Bezirke beobachtet und auf elektronenmikroskopisch nachweisbare Endothelzellschwellungen zurückgeführt wurden.

Nach dem Ergebnis unserer ausführlichen vergleichenden Untersuchungen erscheint uns die Perfusionsmethode mit Tetrazoliumsalzlösungen wegen des Auftretens der beschriebenen Artefakte für den Einsatz im Sektionssaal nicht geeignet, obgleich die lückenlose makroskopische und histologische Darstellung von frischen Makro- und Mikronekrosen des Herzmuskels wünschenswert wäre.

Literatur

- Andersen, J. A., Fischer Hansen, B.: The value of the Nitro-BT method in fresh myocardial infarction. *Amer. Heart J.* **85**, 611—619 (1973)
- Andersen, J. A., Fischer Hansen, B.: Autolytic changes in the human myocardium. *Acta path. microbiol. scand., Sect. A* **82**, 337—334 (1974)
- Brody, G. L., Belding, W. A., Belding, R. M., Feldman, S. A.: The identification and delineation of myocardial infarcts. *Arch. Path.* **84**, 312—317 (1967)
- Buss, H.: Histochemische Frühdiagnose des experimentellen Herzinfarktes unter Berücksichtigung der Autolyse. *Beitr. path. Anat.* **140**, 257—279 (1970)
- Cain, H., Assmann, W.: Bedeutung und Problematik enzymatischer Gewebs- und Serumbefunde beim frischen Myokardinfarkt. *Klin. Wschr.* **38**, 433—439 (1960)
- Doerr, W.: Über die Anwendung des Reduktionsindicators Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) in Histologie und Histophysiologie. *Frankfurt. Z. Path.* **61**, 557—573 (1950)
- Freudenberg, H., Knieriem, H. J., Möller, C., Jansen, C.: Quantitative morphologische Untersuchungen zur Koronarsklerose und Koronarinsuffizienz. *Basic. Res. Cardiol.* **69**, 161—203 (1974)
- Fry, J.: Acute myocardial infarction — The pre-hospital phase. *Schweiz. med. Wschr.* **98**, 1210—1212 (1968)
- Graves, M. D., Koepke, J. A., Lafond, D. J., Ross, A.: Myocardial enzymes in myocardial infarction. *Amer. J. clin. Path.* **37**, 282—288 (1962)
- Harnarayan, C., Bennett, M. A., Pentecost, B. L., Brewer, D. B.: Quantitative study of infarcted myocardium in cardiogenic shock. *Brit. Heart J.* **32**, 728—732 (1970)
- Hecht, A.: Die ischämische Herzmuskelkrankung — Makroskopisch-histochemische Befunde. In: *Moderne Herzmuskelpathologie*. Jena VEB Gustav Fischer 1970
- Heilmann, K., Völk, A., Fölsch, U.: Frühdiagnose des Myokardinfarktes. *Ärztl. Forsch.* **26**, 207—214 (1972)
- Hodel, C.: Untersuchungen an Myokardinfarkten mit der Neotetrazoliummethode. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **58**, 32—39 (1966)
- Jestädt, R., Sandritter, W.: Erfahrungen mit der TTC-(Triphenyltetrazoliumchlorid-)Reaktion für die pathologisch-anatomische Diagnose des frischen Herzinfarktes. *Z. Kreisl.-Forsch.* **48**, 802—809 (1959)
- Kössling, F. K., Stelzig, H. H., Walther, G.: Frühdiagnose des Myokardinfarktes: Untersuchungen zur Autolyseresistenz histochemischer Nachweismethoden. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **116**, 152—162 (1972)
- Kunde, D., Seidler, E.: Darstellung enzymhistochemischer Frühveränderungen am experimentellen Herzinfarkt durch Monotetrazoliumsalze. *Exp. Path.* **5**, 46—52 (1971)
- Lichtig, C., Glagov, S., Feldman, S., Wissler, R. W.: Myocardial ischemia and coronary artery atherosclerosis. *Med. Clin. N. Amer.* **57**, 79—91 (1973)
- Lie, J. T., Holley, K. E., Kampa, W. R., Titus, J. L.: New histochemical method for morphologic diagnosis of early stages of myocardial ischemia. *Mayo Clin. Proc.* **46**, 319—327 (1971)
- Mangili, F., Farneti, A.: Il rilievo dell'infarto miocardico recente con metodica colorativa con sali di Tetrazolio. *Minerva med.* **87**, 96—100 (1967)
- McVie, J. G.: Postmortem detection of inapparent myocardial infarction. *J. clin. Path.* **23**, 203—209 (1970)

- Morales, A. R., Fine, G.: Early human myocardial infarction. A histochemical study. *Arch. Path.* **82**, 9—14 (1966)
- Nachlas, M. M., Shnitka, T. K.: Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alteration in dehydrogenase activity. *Amer. J. Path.* **42**, 379—405 (1963)
- Poche, R., Arnold, G., Gahlen, D.: Über den Einfluß des Perfusionsdruckes im Coronarsystem des stillgelegten, aerobperfundierte, isolierten Meerschweinchenherzen auf Stoffwechsel und Feinstruktur des Herzmuskels. *Virchows Arch. Abt. B* **8**, 252—266 (1971)
- Poche, R., Arnold, G., Nier, H.: Die Ultrastruktur der Muskelzellen und der Blutkapillaren des isolierten Rattenherzens nach diffuser Ischämie und Hyperkapnie. *Virchows Arch. Abt. A* **346**, 239—268 (1969)
- Sandritter, W., Jestädt, R.: Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) als Reduktionsindikator zur makroskopischen Diagnose des frischen Herzinfarktes. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **41**, 165—170 (1957)
- Seidler, E., Kunde, D.: Verbesserter histochemischer Dehydrogenasenachweis mit Monotetrazoliumsalzen. *Acta histochem. (Jena)* **32**, 142—156 (1969)
- Shnitka, T. K., Nachlas, M. M.: Histochemical alterations in ischemic heart muscle and early myocardial infarction. *Amer. J. Path.* **42**, 507—527 (1963)
- Stofer, A. R.: Die Früherfassung des experimentellen Herzinfarktes der Ratte mit der TTC-Reaktion. *Path. et Microbiol. (Basel)* **27**, 467—474 (1964)
- Walther, G., Kössling, F. K., Stelzig, H. H.: Untersuchungen zum Frühnachweis des Herzinfarktes an einem unausgewählten Sektionsgut. *Beitr. gerichtl. Med.* **26**, 62—68 (1969)
- Zugibe, F. T., Bell, Jr., P., Conley, T., Standish, M. L.: Determination of myocardial alterations at autopsy in absence of gross and microscopic changes. *Arch. Path.* **81**, 409—411 (1966)

Prof. Dr. med. H.-J. Knieriem
Institut für Pathologie
Ev. Krankenhaus Bethesda
Heerstraße 219
D-4100 Duisburg 1
Bundesrepublik Deutschland