

Enzymhistochemische, histometrische und ultrastrukturelle Untersuchungen von Milzen bei der Vinylchlorid-Krankheit

U. Heusermann und H.J. Stutte

Abteilung Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie der Universität Kiel
(Leiter: Prof. Dr. K. Lennert)

Enzyme Histochemical, Histometrical and Ultrastructural Studies of Spleens in Vinylchloride-Disease

Summary. By means of histometric, enzyme histochemical, and electron microscopic investigations it was demonstrated that the pathological changes in the spleen in vinylchloride-disease are primary. Fibroblastic cells are the only specific splenic cells involved. Fibre-associated reticulum cells of the red pulp and fibroblastic reticulum cells in white pulp are stimulated to produce excessive amounts of the extracellular elements of connective tissue, especially collagen fibrils. The newly formed connective tissue causes obliteration of extracellular blood channels in the red pulp and thus a reduction in the number of pulp-cord macrophages, and scarring of the periarterial lymphatic sheaths. The results of this fibrosing process are characteristic quantitative changes in the splenic histologic structures. These changes are different from those structural alterations occurring in spleens following extra-splenic hemodynamic changes, such as thrombosis of the splenic veins or cirrhosis of the liver.

Key words: Vinylchloride-disease – Splenomegaly – Electron microscopy – Enzyme histochemistry – Morphometrics.

Zusammenfassung. Durch histometrische, enzymhistochemische und elektro-nenmikroskopische Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß die pathologischen Milzveränderungen bei der Vinylchlorid-Krankheit nicht durch hepatisch bedingte Pfortaderdruckerhöhung verursacht werden, sondern auf einer Gewebsalteration durch das Vinylchlorid oder dessen Metabolite beruhen. Dabei sind vor allem die faserbildenden Zellen der Milz beteiligt. Faserassoziierte Reticulumzellen in der roten Pulpa und fibroblastische Reticulumzellen in der weißen Pulpa werden zu übermäßiger Bindegewebsneubil-

dung stimuliert. Hierdurch kommt es in der roten Pulpa zur bindegewebigen Verödung der Filtrationsräume mit einer Reduzierung der Pulpastrangmakrophagen und in der weißen Pulpa zu einer Vernarbung der peripheriellen Lymphscheiden. Die Folgen dieser Fibrosierungsprozesse sind charakteristische Veränderungen in der quantitativen Zusammensetzung der Gewebskomponenten, die sich deutlich von denjenigen in Milzen bei Lebercirrhose und Milzvenenthrombose unterscheiden.

I. Einleitung

Während in früherer Zeit nur sporadisch über Organveränderungen nach Vinylchlorid-Exposition berichtet wurde, haben sich die Arbeiten zu diesem Thema in den letzten 10 Jahren gehäuft (Literaturübersicht bei Marsteller et al., 1975). Dabei wurde klar, daß zahlreiche Organe betroffen sein können. Hierzu gehört auch die Milz. Immerhin konnte bei Arbeitern, die an dieser Systemsklerose erkrankt waren, in über 50% eine Splenomegalie nachgewiesen werden (Veltman et al., 1975). Nicht selten bestanden klinisch zusätzlich die Zeichen einer portalen Hypertension. Diese Koinzidenz veranlaßte einige Autoren, die Ursache der Splenomegalie in einer Pfortaderdruckerhöhung zu sehen (Marsteller et al., 1973; Thomas und Popper, 1975). Lichtmikroskopische Untersuchungen zu diesem Thema konnten charakteristische pathologisch-anatomische Veränderungen in der Milz aufzeigen (Popper und Thomas, 1975; Thomas et al., 1975; Stutte, Heusermann, Müller, Lelbach, in Vorbereitung). Die Art der dabei festgestellten Fibrosierungsprozesse sprach jedoch gegen die sekundäre Natur dieser Veränderungen und ließ vermuten, daß es sich um ein primäres Krankheitsgeschehen der Milz selbst handele. Durch histometrische, elektronenmikroskopische und fermenthistochemische Techniken soll versucht werden, diese Frage zu klären und zusätzlich Hinweise auf die Pathogenese dieses Krankheitsgeschehens und der dabei in der Milz beteiligten Zellen zu erhalten.

II. Material and Methoden

1. Enzymhistochemie

Von einer Milz wurden ca. 10 μ dicke Kryostatschnitte angefertigt und nach Lufttrocknung bei Zimmertemperatur ohne Vorfixation folgenden Enzymreaktionen unterzogen: Alkalische Phosphatase, saure Phosphatase, Naphthol-AS-Acetat-Esterase und alpha-Naphthylacetat-Esterase mit und ohne succedane Versilberung sowie mit und ohne Kerngegenfärbung (Stutte, 1974).

2. Histometrie

Von 2 Milzen wurde an Schnittpräparaten das anteilige Volumen der roten und weißen Pulpa sowie der Trabekel und großen Gefäße mit dem Zeiss-Integrationsokular I ermittelt. In der roten Pulpa wurden sowohl das prozentuale Volumen von Sinus, Pulpasträngen und Capillaren als auch die Sinuslänge und die Sinusoberfläche pro Volumeneinheit roter Pulpa mit den Zeiss-Integrationsokularen I und II bestimmt. Zusätzlich wurde der mittlere Sinusquerschnitt errechnet (Stutte und Heusermann, 1972).

3. Elektronenmikroskopie

Untersucht wurden 6 Milzpunktate und eine durch Splenektomie gewonnene Milz. Die Milzpunktate wurden in gepuffertem Glutaraldehyd vorfixiert, in Osmiumsäure nach Millonig nachfixiert und in Epon 812 gemäß Angaben von Luft eingebettet. Von der extirpierten Milz wurden 1–3 mm³ große Gewebsproben aus der Kapselzone und aus dem tieferen Milzparenchym für 1–3 h mit Osmiumsäure (1 Teil Collidinpuffer pH 7,2 und 2 Teile 2%iges Osmium-VIII-Oxid) fixiert und nach stufenweiser Dehydratation in Alkohol in Epon eingebettet¹. Die Blöckchen wurden mit einem Glasmesser auf einem Reichert-Mikrotom OM U3 geschnitten. Die Färbung der Semidünn schnitte erfolgte mit Azur-II-Methylenblau. Die Feinschnitte wurden auf Kupfernetze aufgezogen und mit Bleizitrat und Uranylacetat kontrastiert. Die elektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte mit dem Siemens-Elmiskop I und 101 bei 80 kV.

III. Ergebnisse

1. Enzymhistochemie

a. *Saure Phosphatase*. Diese Enzymreaktion fällt besonders stark in den Makrophagen aus und ermöglicht eine Beurteilung von Anzahl und Verteilung dieser Zellen. Bei der Vinylchlorid-Krankheit sind sie in der roten Pulpa im Vergleich zu normalen Milzen deutlich vermindert. Die noch vorhandenen Makrophagen liegen etwa zu gleichen Anteilen als „sessile Makrophagen“ in den Maschensträngen und als „freie Makrophagen“ in den Sinus, während normalerweise die Zahl der Pulpastrangmakrophagen überwiegt. Die perifolliculäre Zone zeigt dagegen einen regulären Makrophagengehalt. Auch die vereinzelt vorkommenden Keimzentren enthalten saure phosphatasepositive Zellen, d.h. Sternhimmelzellen in üblicher Anzahl. Während in den peripheriellen Lymphscheiden normalerweise nur hin und wieder Makrophagen vorkommen, sind sie bei der Vinylchlorid-Krankheit häufig zwischen den vermehrten Bindegewebefasern dieses Areals zu finden (Abb. 1).

b. *Alpha-Naphthylacetat-Esterase*. Ähnlich wie bei der sauren Phosphatase stellen sich auch bei dieser Enzymreaktion die Makrophagen besonders dar. Zusätzlich besitzen jedoch auch die Reticulumzellen eine mäßig starke Enzymaktivität. Die Verteilung und die Anzahl der Reticulumzellen in den Pulpasträngen und in den Follikeln zeigen gegenüber normalen Milzen keine Veränderungen.

c. *Alkalische Phosphatase*. Bei dieser Enzymreaktion stellen sich in normalen Milzen die Endothelien von Blutgefäßen sowie die fibroblastischen Reticulumzellen dar. Bei der Vinylchlorid-Krankheit zeigten die Endothelien der verschiedenen Gefäßstrecken keine Änderung der Enzymaktivität gegenüber der Norm. Dagegen fiel eine starke diffuse Zunahme der arteriellen Capillaren in der roten Pulpa auf (Abb. 2). Andererseits sind die Capillaren der perifolliculären Zone, besonders die Hülsencapillaren, deutlich gegenüber der Norm vermindert. An einzelnen Stellen liegen die Capillaren der Pulpastränge direkt neben der Sinuswand und scheinen in das Sinuslumen zu münden.

¹ Herrn Prof. Dr. V. Totovic, Pathologisches Institut der Universität Bonn, danken wir für die Überlassung des kunststoffeingebetteten Materials

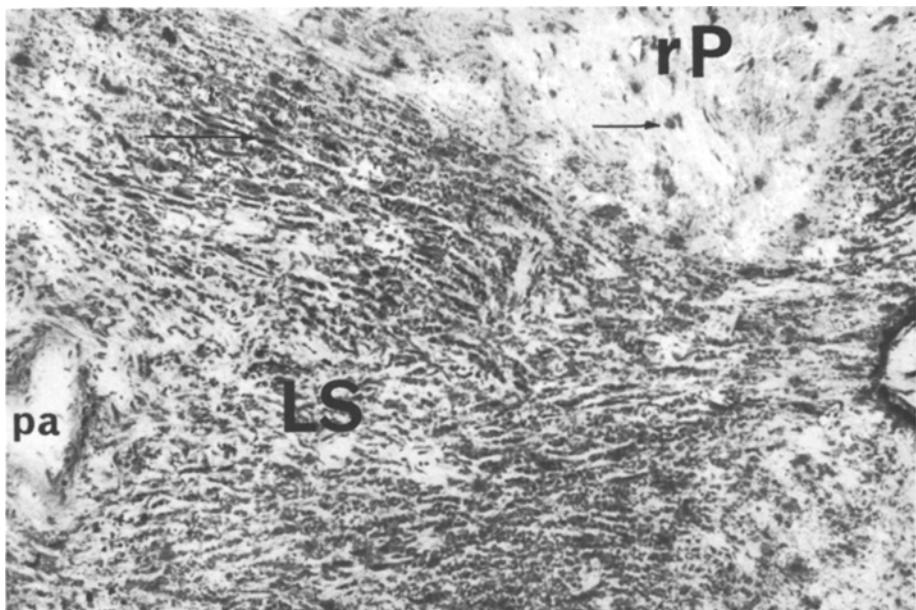


Abb. 1. Vernarbung der periarteriellen Lymphscheide (LS) mit stark reduziertem Lymphocytengehalt. Zwischen den Bindegewebsfasern Makrophagen mit starker saurer Phosphatase-Aktivität (Pfeil). Rote Pulpa (rP) mit nur wenig Makrophagen. Pupaarterie (pa). Kryostatschnitt. Saure Phosphatase-Reaktion (schwarz, im Original rot) mit Kerngegenfärbung. 140 ×

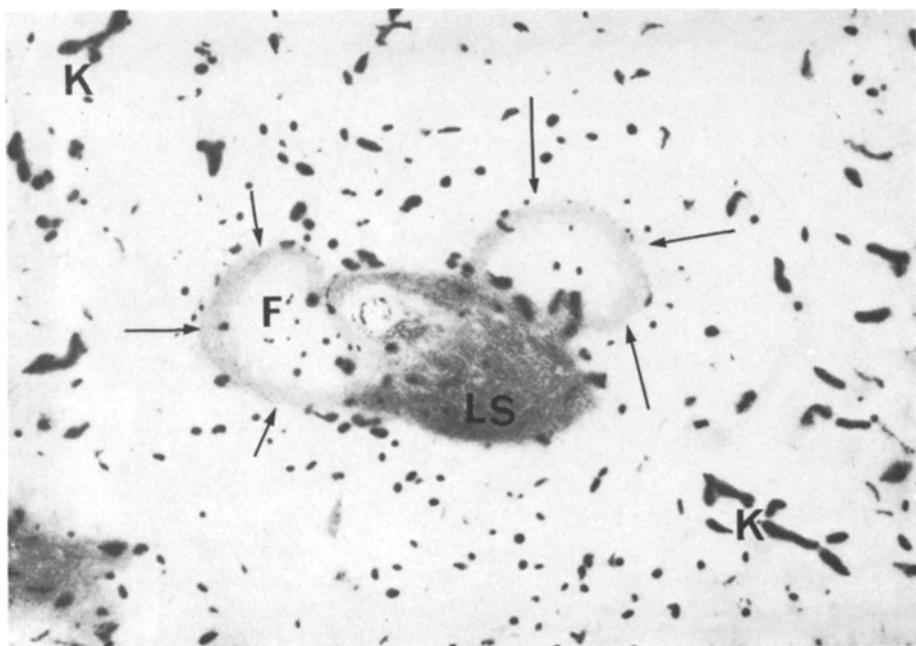


Abb. 2. Starke alkalische Phosphatase-Reaktion in der vernarbten periarteriellen Lymphscheide (LS). Nur geringe alkalische Phosphatase-Reaktion (Pfeile) in der Außenzone der Follikel (F). In der roten Pulpa stark vermehrter Gehalt an Capillaren (k) mit starker alkalischer Phosphatase-Reaktion des Capillarendothels. Perifolliculär nur wenige Capillaren. Kryostatschnitt. Alkalische Phosphatase-Reaktion (schwarz). 56 ×

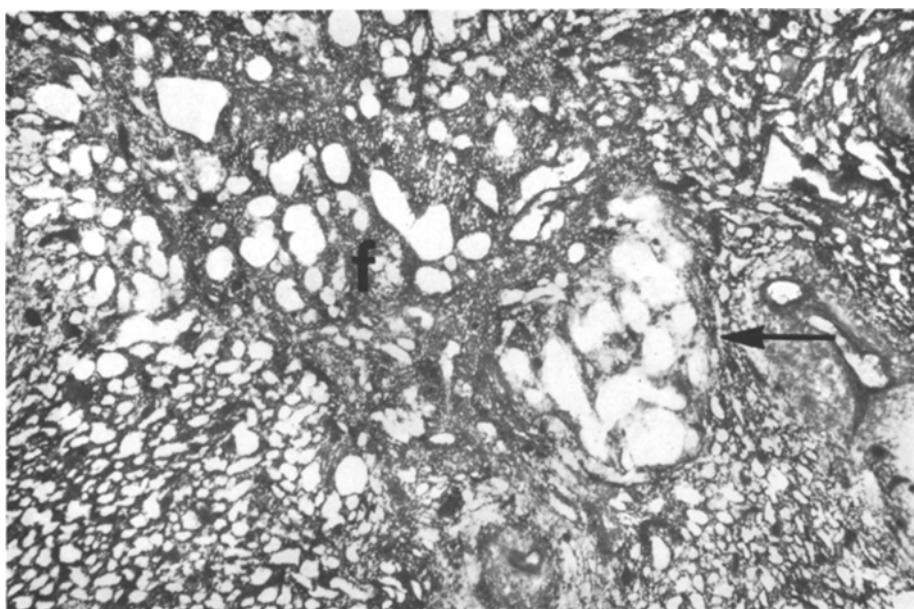


Abb. 3. Oben rechts und unten links gut erkennbare Sinus und Maschenstränge der roten Pulpa. In Bildmitte ein ausgedehnter fibrotischer Herd (f) mit nur noch einzelnen stark erweiterten Sinus. In der rechten Hälfte dieses fibrotischen Herdes ein angiomatöser Bezirk mit kavernösen Gefäßen (Pfeil), deren Endothel sich bei der alkalischen Phosphatase-Reaktion nicht dargestellt. Kryostat-schnitt. Alkalische Phosphatase-Reaktion (schwarz) mit succedaner Versilberung. 56 ×

Bei der kombinierten Enzymdarstellung und Versilberung fällt in der roten Pulpa ein größerer kollagenisierter Bezirk auf, in dem die typische Gitterfaserstruktur der Maschenstränge aufgehoben ist. Die noch spärlich vorhandenen Sinus sind stark erweitert. An einer Stelle innerhalb dieses Fibroseherdes erkennt man einen Bezirk mit weiten kavernösen Gefäßen, deren Zellauskleidung keine alkalische Phosphatase-Aktivität zeigt (Abb. 3).

Die fibroblastischen Reticulumzellen in den Randgebieten der weißen Pulpa zeigen den üblichen Gehalt an alkalischer Phosphatase und auch das typische Verteilungsmuster dieses Enzyms. Während in der Follikelaußenzone die Zahl der fibroblastischen Reticulumzellen nur gering vermehrt ist, ist ihre Anzahl im Bereich der peripheriellen Lymphscheiden dagegen stark erhöht und nimmt stellenweise die ganze Breite dieses Areals ein (Abb. 2 und 4). Gleichzeitig ist es hier zu einer starken Vermehrung des Fasergehaltes gekommen (Abb. 1). Der Lymphocytengehalt ist in diesen Bezirken deutlich vermindert.

d. Naphthol-AS-Acetat-Esterase. Diese Enzymreaktion stellt besonders die Sinuswandzellen dar. In Kombination mit einer Versilberung ist so die Analyse des Sinusystems möglich. Hierbei fällt auf, daß die Sinus insgesamt vermehrt sind und deutlich erweiterte Lumina haben. Die Maschenräume der Pulpastränge

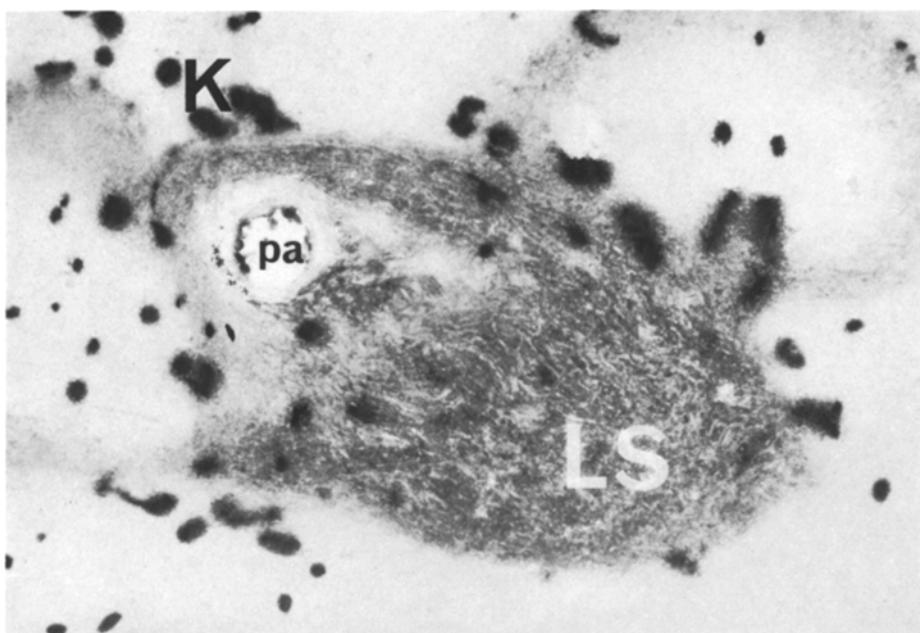


Abb. 4. Fibrosierte, periarterielle Lymphscheide (LS) um eine Pulpaarterie (pa), mit mäßig starker diffuser alkalischer Phosphatase-Reaktion. Capillaren (k) in der angrenzenden roten Pulpa mit starker alkalischer Phosphatase-Reaktion des Endothels. Kryostatschnitt. Alkalische Phosphatase-Reaktion (schwarz). 140×

sind teilweise nicht mehr erkennbar. Am stärksten sind die geschilderten Veränderungen perifolliculär und subkapsulär ausgeprägt.

2. Histometrie

Nur 2 Milzen konnten histometrisch ausgewertet werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgeführt. Zum Vergleich wurden diese Werte den Ergebnissen einer früher durchgeföhrten quantitativen Analyse von normalen Milzen, Milzen bei Lebercirrhose und bei Milzvenenthrombose (Stutte und Heusermann, 1972) gegenübergestellt (Tabelle 2). Eine statistische Auswertung war wegen der geringen Fallzahl nicht möglich. Auf folgende Unterschiede sei jedoch hingewiesen:

a) Der prozentuale Volumenanteil der roten und weißen Pulpa nimmt gegenüber den Kontrollen geringfügig ab. Hier liegt ein Unterschied zu Milzen bei Lebercirrhose und Milzvenenthrombose, bei denen der prozentuale Volumenanteil der weißen Pulpa um fast 1/3 vermindert war. Der prozentuale Volumenanteil der Trabekel und Gefäße stieg in allen 3 Krankheitsgruppen an.

b) In der roten Pulpa, die sich aus den 3 Komponenten „Capillaren“, „Pulpastränge“ und „Sinus“ zusammensetzt, nimmt ähnlich wie bei der Lebercirrhose und der Milzvenenthrombose der prozentuale Volumenanteil der Capillaren und der Sinus gegenüber den Kontrollmilzen zu. Entsprechend war hierbei das Pulpastrangvolumen vermindert.

c) Die Länge des Sinusystems pro Volumeneinheit nahm bei der Vinylchlorid-Krankheit gegenüber den Kontrollmilzen ab, während sie bei Lebercirrhose und Milzvenenthrombose deutlich zugenommen hatte.

d) Der mittlere Sinusquerschnitt bei Vinylchlorid-Krankheit nahm gegenüber normalen Milzen zu, während er bei Lebercirrhose und Milzvenenthrombose abgenommen hatte.

Tabelle 1. Quantitative Strukturanalyse von 2 Milzen (1. T.L., 40 J. alt, männl.; 2. A.S., 52 J. alt, männl.) bei der Vinylchlorid-Krankheit

	1.	2.	Mittelwert
Volumen rote Pula (%)	81	69	75
Volumen weiße Pula (%)	14	17	15
Volumen Trabekel u.			
Gefäße (%)	5	14	9
Volumen Pulpastränge (%)	57	53	55
Volumen Sinus (%)	42	41	41,5
Volumen Kapillaren (%)	1	6	3,5
mittlerer Sinus-			
querschnitt (μ^2)	630	470	550
Sinusoberfläche (mm²/mm³)	60,5	56,8	58,6
Sinuslänge (mm/mm³)	668	898	783

Tabelle 2. Tabellarische Darstellung der Mittelwerte der quantitativen Strukturanalysen von normalen Milzen und Milzen bei der Vinylchlorid-Krankheit, Lebercirrhose und Milzvenenthrombose

	Vinylchlorid-Krankheit	Kontrollen	Lebercirrhose	Milzvenenthrombose
Volumen rote Pula (%)	75	79	89	81
Volumen weiße Pula (%)	15	16	5	7
Volumen Trabekel und				
Gefäße (%)	9	5	9	12
Volumen Sinus (%)	41,5	35	39	45
Volumen Pulpastränge (%)	55	63	59	51
Volumen Kapillaren (%)	3,5	2	3	4
mittlerer Sinusquer-				
querschnitt (μ^2)	550	440	380	340
Sinuslänge (mm/mm³)	783	810	1010	1390
Sinusoberfläche (mm²/mm³)	58,6	57	66	80

3. Elektronenmikroskopie

Die Gitterfaserstrukturen von Sinuswand und Maschensträngen sind hochgradig verändert. Die Gitterfasern sind stark verdickt und imponieren als breite Platten, die aus einer mäßig stark elektronendichten, amorphen Grundsubstanz bestehen.

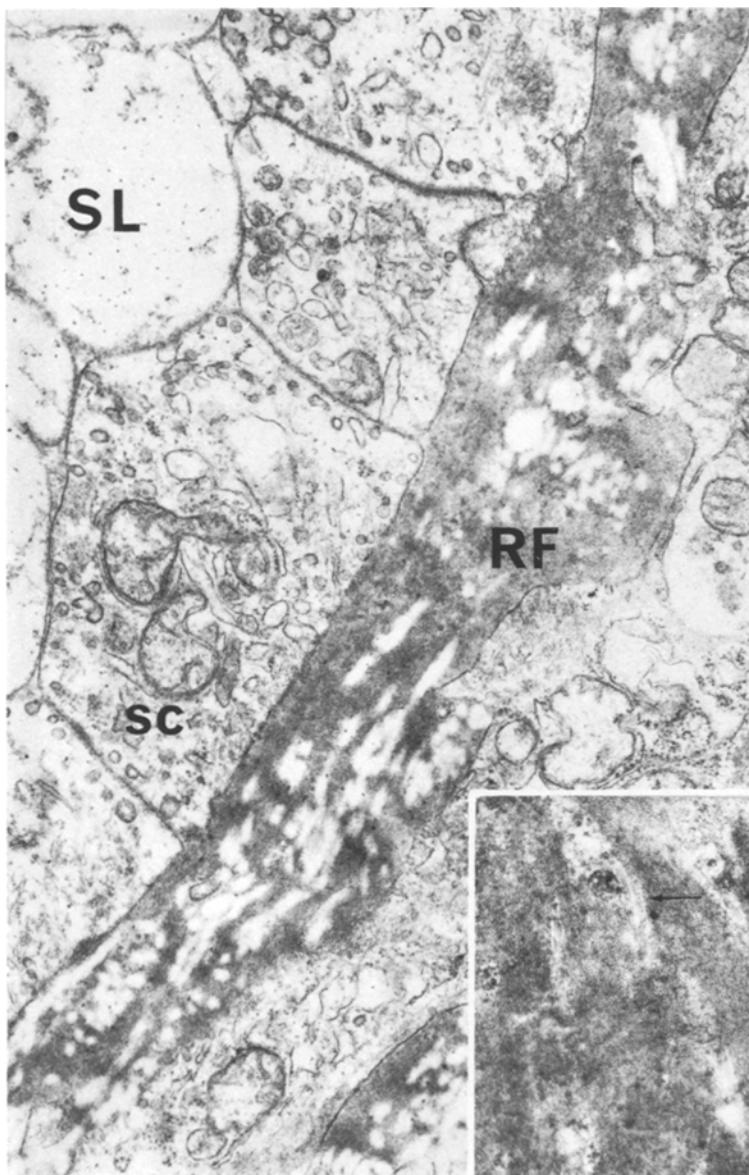


Abb. 5. Sinuswand mit stark verdickten Ring- und Längsfasern (RF), die zahlreiche streifenförmige Aufhellungsbezirke enthalten. Sinuslumen (SL), Sinuswandzellen (sc). $27000 \times$. Inset: In der amorphen Grundsubstanz der Gitterfasern kollagene Fibrillen mit typischer Querstreifung (Pfeil). $27000 \times$

Sie enthalten eine nicht unbeträchtliche Anzahl punkt- und streifenförmiger, heller Bezirke (Abb. 5). Hierbei handelt es sich um kollagene Fibrillen (Abb. 5, Inset). Diese sind regellos in der sie umgebenden amorphen Grundsubstanz angeordnet und lassen somit den typischen bündelförmigen Aufbau des kollagenen Bindegewebes vermissen. Besonders in den Maschenräumen sind die den

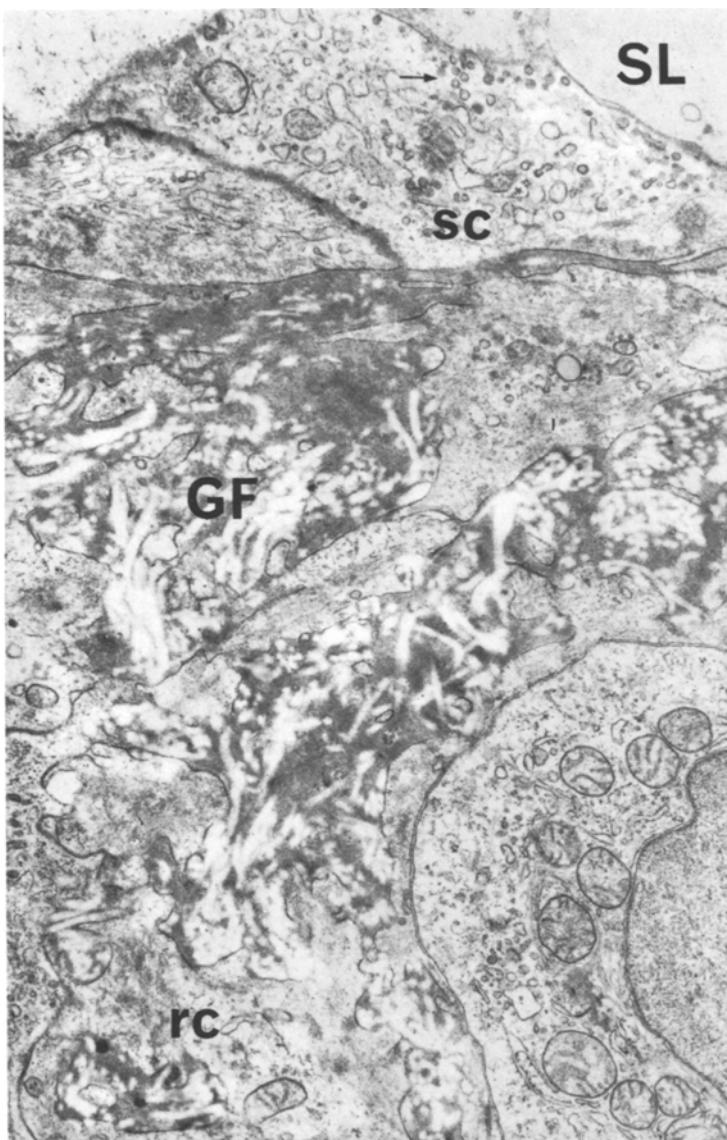


Abb. 6. Sinuswand und Maschenstrang mit stark verbreiterten Gitterfasern (GF), die zahlreiche unregelmäßig angeordnete kollagene Fibrillen in ihrer amorphen Grundsubstanz enthalten. Zwischen den Gitterfasern Cytoplasmabezirke von faserassoziierten Reticulumzellen (rc). Normale Ultrastruktur der Sinuswandzellen (sc) mit Mikropinocytosebläschen (Pfeil). 15600×

faserassoziierten Reticulumzellen angelagerten Gitterfasern stark verbreitert und bilden bizarre geformte, untereinander zusammenhängende Areale (Abb. 6). Die cellulären Bestandteile der Maschenstränge sind deutlich vermindert. Neben faserassoziierten Reticulumzellen findet man Pulpastrangmakrophagen, vereinzelt auch Plasmazellen, Lymphocyten und neutrophile Granulocyten. In der

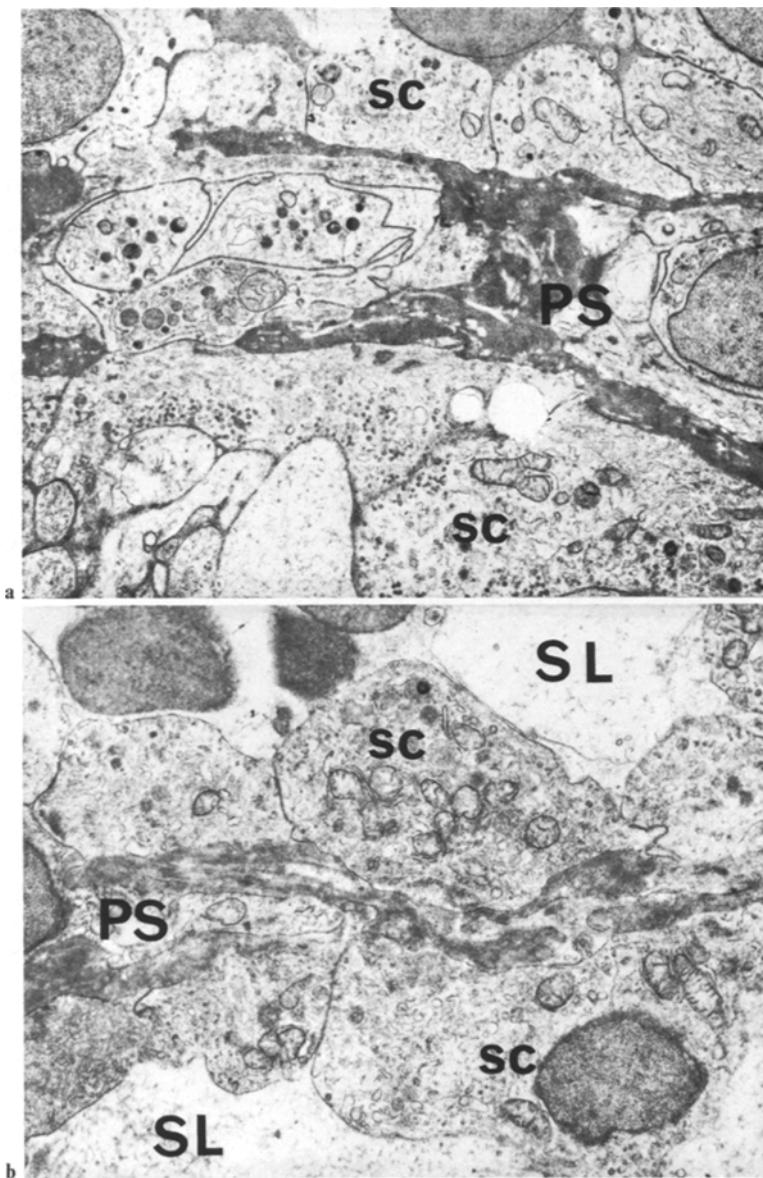


Abb. 7. a Stark verschmälerter Maschenstrang zwischen 2 Sinus. $7800 \times$. b Verödete Filtrationsräume in dem praktisch nur noch aus Gitterfasern bestehenden Maschenstrang. $12000 \times$. Sinuslumen (SL), Sinuswandzellen (sc), Maschenstrang (PS)

roten Pulpa sind an vielen Stellen die Pulpastränge stark verschmälert (Abb. 7a). Durch die Verschmälerung der Pulpastränge und die starke Zunahme des Gitterfasergerüstes sind die Filtrationsräume der roten Pulpa deutlich reduziert, stellenweise sind sie nicht mehr nachweisbar (Abb. 7b). Sinuswand liegt hier an Sinuswand. Parallel mit der Einengung der Filtrationsräume ist auch die Zahl der

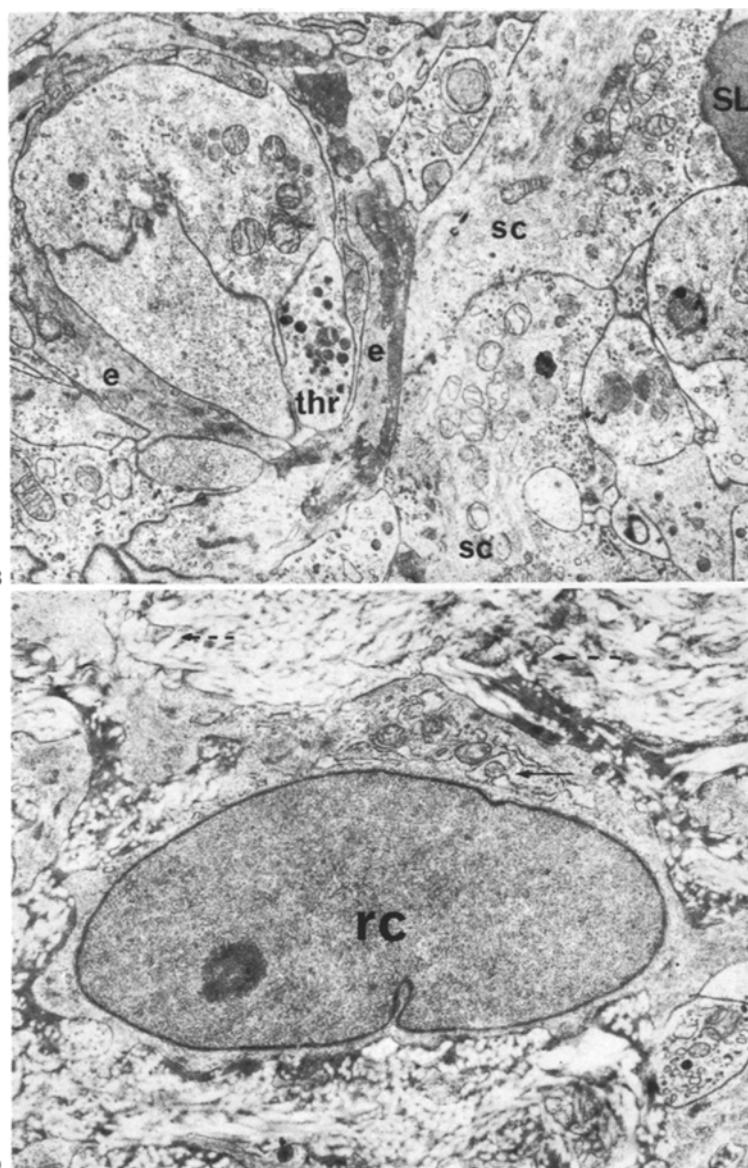


Abb. 8. Capillare des Maschenstranges direkt subsinusoidal liegend. Zwischen dem Capillarendothel (e) und den Sinuswandzellen (sc) nur noch Gitterfasern. Im spaltförmigen Lumen der Capillare ein Thrombocyt (thr). Sinuslumen (SL). 8000 ×

Abb. 9. In einem stark fibrosierten Pulastrang eine stoffwechselaktive faserassoziierte Reticulumzelle (rc) mit deutlicher Vermehrung von Ergastoplasm, das überwiegend beträchtlich dilatiert ist (Pfeil). Zwischen den bindegewebigen Partien kleinere ummauerte Cytoplasmabezirke von Reticulumzellen (unterbrochener Pfeil). 10 500 ×

Pulpastrangmakrophagen deutlich verringert. So sieht man überwiegend Cytoplasmaanteile von faserassoziierten Reticulumzellen. Häufig erkennt man Gruppen von Thrombocyten subsinusoidal in den eingeengten Maschenräumen. Die wenigen hier noch vorhandenen Makrophagen haben nicht selten Thrombocyten phagozytiert. Die Sinuswandzellen zeigen ultrastrukturell das übliche Bild mit zahlreichen Mikropinocytosebläschen und basal angeordneten Filamentbündeln (Abb. 6).

Gelegentlich kommen zwischen benachbarten Sinuswandzellen interzelluläre Junctionen vor, die in normalen Milzen nur sehr selten beobachtet werden (Heusermann und Stutte, 1974). Im Cytoplasma der Sinuswandzellen sieht man hin und wieder phagocytiertes Material, bei normalen Milzen ein ungewöhnlicher Befund. Die in den Maschensträngen liegenden Capillaren und Arteriolen zeigen einen regelhaften Aufbau von Endothelien und Basalmembran. Perivasal erkennt man gegenüber normalen Milzen eine Zunahme der Gitterfasern. Gehäuft liegen die Capillaren des Maschenstranges direkt subsinusoidal. Hierbei sind die Endothelzellen der Capillaren von den Sinuswandzellen nur durch Anteile der Gitterfasern getrennt (Abb. 8). Eine direkte Mündung von Capillaren in einen Sinus konnten wir jedoch nicht sehen.

Während normalerweise die faserassoziierten Reticulumzellen nur wenige Cytoplasmaorganellen enthalten (einzelne Mitochondrien, wenige Stücke von Ergastoplasmata) und somit keine Zeichen einer nennenswerten sekretorischen Aktivität aufweisen, zeigen diese Zellen bei der Vinylchlorid-Krankheit eine Vermehrung von oft dilatierten Ergastoplasmaschlüchen mit benachbart liegenden Mitochondrien. Zusätzlich finden sich reichlich Ribosomen und ein gut entwickelter Golgi-Apparat mit vielen Vesikeln sowie Pinocytosebläschen, die mit der Zellmembran zum Teil verschmolzen sind. Diese faserassoziierten Reticulumzellen bilden mit der angrenzenden Gitterfasersubstanz ein labyrinthäres Muster wobei kleine Cytoplasmaanteile in den Gitterfasern liegen und umgekehrt (Abb. 9).

IV. Diskussion

Nach unseren lichtmikroskopischen Untersuchungen treten bei der Vinylchlorid-Krankheit nicht nur Fibrosen in Leber, Lungen und Haut (Lange et al., 1974), sondern auch in der Milz auf (Stutte, Heusermann, Müller, Lelbach, in Vorbereitung). Dabei besteht ein charakteristisches Fibrosierungsmuster mit Vernarbung der periarteriellen Lymphscheiden, Verödung der Maschenräume und Dilatation der Sinus. Mehrfach ist die Meinung vertreten worden, daß diese Milzveränderungen sekundärer Natur seien. Hierbei soll auf der Basis einer vinylchloridinduzierten Leberfibrose eine portale Hypertension entstanden sein, die ihrerseits als Ursache der Splenopathie angesehen wurde (Marsteller et al., 1973; Thomas und Popper, 1975).

Durch die von uns durchgeführten histometrischen Untersuchungen konnten Unterschiede der Strukturveränderungen in Milzen bei Milzvenenthrombose und Lebercirrhose einerseits und bei Vinylchlorid-Krankheit andererseits zahlenmäßig erfaßt werden: Während die Volumenzunahme der Milz bei Lebercirrhose

und Milzvenenthrombose hauptsächlich durch eine Vermehrung der roten Pulpa und in geringerem Maße auch durch eine Vermehrung der Trabekel und Gefäße bedingt ist, nehmen bei der Vinylchlorid-Krankheit in der Milz rote und weiße Pulpa etwa gleichmäßig zu, etwas stärker dagegen das Bindegewebsgerüst. Aufälliger sind die quantitativen Veränderungen in der roten Pulpa. Wie bei der Lebercirrhose und der Milzvenenthrombose nimmt auch bei der Vinylchlorid-Krankheit das prozentuale Volumen der Sinus zu. Entsprechend nimmt der Anteil des Pulpastrangvolumens ab (Verödung der Maschenstränge!). Diese Sinusvolumenzunahme ist bei der Lebercirrhose und der Milzvenenthrombose durch die überaus starke Längenzunahme von verengten Sinus bedingt. Anders bei der Vinylchlorid-Krankheit: Hier ist die Zunahme des Sinusvolumens ausschließlich auf eine Vergrößerung des mittleren Sinusquerschnittes zurückzuführen, da die Sinuslänge pro Volumeneinheit sogar gering unter den Kontrollwerten liegt.

Diese Zahlen sprechen gegen die Auffassung, daß die Milzveränderungen bei der Vinylchlorid-Krankheit Folge einer portalen Hypertension sind. Hinzu kommen auch ultrastrukturelle Unterschiede in der Gerüststruktur der Milzen bei Lebercirrhose und Vinylchlorid-Krankheit: Während normalerweise der bindegewebige Anteil des Milzreticulums aus zarten Gitterfasern besteht, die in der amorphen Grundsubstanz nur vereinzelt kollagene Fibrillen enthalten (Heusermann und Stutte, 1975), ist diese bindegewebige Komponente der Milz bei der Vinylchlorid-Krankheit aus breiten, zum Teil bizarr geformten Platten und Strängen aufgebaut, die in ihrer amorphen Grundsubstanz reichlich kollagene Fibrillen enthalten. Ähnliche Veränderungen des bindegewebigen Reticulums finden sich auch in portalen Stauungsmilzen bei Lebercirrhose (Heusermann, Stutte und Schroeder, in Vorbereitung). Während jedoch dabei die kollagenen Fibrillen vorwiegend in Bündeln geordnet vorkommen, liegen sie bei der Vinylchlorid-Krankheit überwiegend ungeordnet in der bindegewebigen Grundsubstanz. Dieser Unterschied kann folgendermaßen interpretiert werden: Bei der Lebercirrhose kommt es durch die intermittierenden Druckerhöhungen im venösen Abflußsystem (Hueck, 1930) zu einer Verstärkung der Gitterfasern mit einem Einbau von kollagenen Fibrillen, die möglicherweise entsprechend der Zugbelastung des Stromas angeordnet sind. Diese Ausrichtung der kollagenen Fibrillen fehlt bei der Vinylchlorid-Krankheit. Die hier vorliegende wahllose Einlagerung kollagener Fibrillen in die verbreiterten Gitterfasern spricht für ein primäres Fibrosierungsgeschehen, welches möglicherweise durch das Vinylchlorid oder dessen Metaboliten induziert wird. Bildungsort der Gitterfasern sind die faserassoziierten Reticulumzellen (Heusermann und Stutte, in Vorbereitung). Während diese Zellen normalerweise kaum Zeichen einer funktionellen Aktivität aufweisen, zeigen sie bei der Vinylchlorid-Krankheit stark dilatierte Ergastoplasmaschlüche, reichlich Ribosomen und einen deutlich entwickelten Golgi-Apparat. In ihrer Morphologie erinnern sie an Fibroblasten des Bindegewebes. Diese Ähnlichkeit und vor allem die innigen morphologischen Beziehungen des Cytoplasmas dieser Reticulumzellen zu dem neugebildeten Fasermaterial machen es sehr wahrscheinlich, daß diese Zellen an der Faserneubildung beteiligt sind. Neben diesen faserassoziierten Reticulumzellen sind durch das Vinylchlorid oder dessen Metaboliten besonders auch die sog. fibroblastischen Reticulumzellen betroffen.

Dieser Typ von Reticulumzellen ist durch seine alkalische Phosphatase-Aktivität an der Zelloberfläche und durch seine innigen Beziehungen zu Gitterfasern gekennzeichnet. Aufgrund ultrastruktureller Befunde sind sie als eine besondere stoffwechselaktive Form der faserassoziierten Reticulumzelle anzusehen. Sie kommen besonders in proliferationsaktiven Arealen der Milz, wie den Lymphfollikeln, vor und bilden Faserstrukturen (Heusermann und Stutte, in Vorbereitung). Diese Zellform wird bei Vinylchlorid-Exposition offenbar besonders frühzeitig und intensiv zur Faserneubildung stimuliert, die bis zu vollständiger Vernarbung, speziell der peripheriellen Lymphscheiden der Milz, führen kann. In unseren Untersuchungen konnte dieses durch eine starke Zunahme der alkalischen Phosphatase-Aktivität in dieser Region demonstriert werden.

Durch die starke Kollagenfaserzunahme in der roten Pulpa werden die Filtrationsräume in den Maschensträngen stark eingeengt. Die Zahl der Makrophagen ist hier deutlich reduziert, was sich sowohl bei der ultrastrukturellen als auch bei der enzymhistochemischen Untersuchung mit der sauren Phosphatase-Reaktion aufzeigen lässt. Für die dadurch bedingte Einschränkung der Phagocytosekapazität der Milz spricht die Beobachtung, daß Sinuswandzellen gelegentlich phagocytiertes Material enthalten, was unter normalen Bedingungen praktisch nicht vorkommt (Heusermann und Stutte, 1975). Offensichtlich haben die Sinuswandzellen unter den genannten Bedingungen einen Teil der Aufgaben der Pulpastrangmakrophagen übernommen.

Die gemeinsam mit der Fibrosierung auftretende Verschmälerung der Pulpastränge ist möglicherweise die Folge von narbigen Schrumpfungsprozessen der neugebildeten bindegewebigen Strukturen mit ihrem starken Anteil an kollagenen Fibrillen. Dieser Schrumpfungsprozeß führte zu einer progradienten Einenung der Filtrationsräume in der Milz. Gleichzeitig kommt es hierbei zu einer Verlagerung von Pulpastrangcapillaren und deren Mündungen in die unmittelbare Nähe der Sinuswand. Diese Umbauvorgänge im Bereich der terminalen Milzstrombahn dürften eine Steigerung der Milzdurchblutung bewirken und dadurch zu einer erhöhten Volumenbelastung des Pfortadersystems führen.

Durch die von uns durchgeföhrten enzymhistochemischen, histometrischen und ultrastrukturellen Untersuchungen von Milzen nach Vinylchlorid-Exposition wurden wichtige Erkenntnisse zur formalen Pathogenese dieses Krankheitsbildes gewonnen: Ausschließlich das System der faserbildenden Zellen der Milz wird durch Vinylchlorid oder dessen Stoffwechselprodukte aktiviert und zu überschließender Faserneubildungen insbesondere kollagener Fibrillen, angeregt. Dabei kommt es über die Fibrocyten in der Milzkapsel und den Trabekeln, über die faserassoziierten Reticulumzellen in der roten Pulpa und über die fibroblastischen Reticulumzellen insbesondere in der weißen Pulpa zu starken Sklerosierungsprozessen. Entgegen den Vermutungen von Popper und Thomas (1975) und Berk et al. (1976) sind die Sinuswandzellen an diesem Geschehen unbeteiligt, insbesondere zeigen sie weder eine Hyperplasie noch wesentliche strukturelle Veränderungen. Auch die Endothelien arterieller und venöser Gefäße bieten ultrastrukturell und fermenthistochemisch ein normales Bild. Die Pulpastrangmakrophagen als wesentlicher Bestandteil des sog. Milz-RES sind sogar stark vermindert.

Die von uns beobachtete selektive Stimulierung faserbildender Zellen in der

Milz nach Vinylchlorid-Exposition stimmt überein mit den Befunden von Triche et al. (1975) und Jayson et al. (1976), die in Leber und Haut ebenfalls eine vermehrte Synthese von Fasersubstanzen beschrieben.

Somit scheint das pathogenetische Grundprinzip der Vinylchlorid-Krankheit in einer überschießenden und regellosen Faserneubildung zu liegen, wobei unterschiedliche Organmanifestationen durch unterschiedliche Gewebskonzentration des Vinylchlorids oder seiner Metabolite bedingt sein dürften.

Literatur

- Berk, P.D., Martin, J.F., Young, R.S., Creech, J., Selikoff, I.J., Falk, H., Watanabe, P., Popper, H., Thomas, L.: Vinyl chloride-associated liver disease. *Ann. Intern. Med.* **84**, 717–731 (1976)
- Heusermann, U., Stutte, H.J.: Intercellular junctions of sinus lining cells in the human spleen. *Cell Tiss. Res.* **151**, 337–342 (1974)
- Heusermann, U., Stutte, H.J.: Comparative histochemical and electronmicroscopic studies of the sinus and venous walls of the human spleen with special reference to the sinus-venous connections. *Cell Tiss. Res.* **163**, 519–533 (1975)
- Hueck, W.: Über das Mesenchym. II. Teil. Zirkulationsstörungen, Degeneration, Hypertrophie und Hyperplasie des Mesenchyms am Beispiel der chronischen Milzvergrößerungen. *Beitr. path. Anat.* **83**, 152–184 (1930)
- Jayson, M.I.V., Bailey, A.J., Black, C., Jones, K.L.: Collagen synthesis in acro-osteolysis. *Proc. Roy. Soc. Med.* **69**, 295–297 (1976)
- Lange, C.E., Jühr, S., Stein, G., Veltman, G.: Die sogenannte Vinylchlorid-Krankheit – eine berufsbedingte Systemsklerose? *Int. Arch. Arbeitsmed.* **32**, 1–32 (1974)
- Marsteller, H.J., Lelbach, W.K., Müller, R., Mühr, S., Lange, C.E., Rohnen, H.G., Veltman, G.: Chronisch-toxische Leberschäden bei Arbeitern in der PVC-Produktion. *Dtsch. med. Wschr.* **98**, 2311–2314 (1973)
- Marsteller, H.J., Lelbach, W.K., Müller, R., Gedigk, P.: Unusual splenomegalic liver disease as evidenced by peritoneoscopy and guided liver biopsy among polyvinyl chloride production workers. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **246**, 95–134 (1975)
- Popper, H., Thomas, L.B.: Alterations of liver and spleen among workers exposed to vinyl chloride. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **246**, 172–194 (1975)
- Stutte, H.J.: Hypersplenismus und Milzstruktur. Fermenthistochemische und biometrische Untersuchungen an menschlichen Milzen. Stuttgart: G. Thieme 1974
- Stutte, H.J., Heusermann, U., Müller, R., Lelbach, W.K.: Die pathologische Anatomie der Milz bei der Vinylchlorid-Krankheit. (in Vorbereitung)
- Stutte, H.J., Heusermann, U.: Splenomegaly and red blood cell destruction. A morphometric study on the human spleen. *Virch. Arch. Abt. B. Zellpath.* **12**, 1–21 (1972)
- Thomas, L.B., Popper, H.: Pathology of angiosarcoma of the liver among vinyl chloride-polyvinyl chloride workers. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **246**, 268–277 (1975)
- Thomas, L.B., Popper, H., Berk, P.D., Selikoff, I., Falk, H.: Vinyl-chloride-induced liver disease. From idiopathic portal hypertension (Banti's syndrome) to angiosarcomas. *New Engl. J. Med.* **292**, 17–22 (1975)
- Triche, T., Nanba, K., Ishak, K., Wolkoff, A., Berk, P.D.: Hepatic ultrastructural changes in vinyl-chloride (VC) workers. (abstract) *Cin. Res.* **23**, 259A (1975)
- Veltman, G., Lange, C.-E., Jühr, S., Stein, G., Bachner, U.: Clinical manifestations and course of vinyl chloride disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **246**, 6–17 (1975)