

Feinstrukturell-morphometrische Befunde an der Kammerwand des nicht belasteten menschlichen linken Ventrikels junger und alter Patienten

Martin Fleischer, Holger Warmuth, Klaus-Peter Backwinkel
und Hermann Themann

Lehrstuhl für Medizinische Cytobiologie (Leiter: Prof. Dr. H. Themann), Münster

Richard-Siegfried Achatzy und Herbert Dittrich

Lehrstuhl für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie
(Direktor: Prof. Dr. H. Dittrich), Münster

Ultrastructural Morphometric Analysis of Normally Loaded Human Myocardial Left Ventricles from Young and Old Patients

Summary. An ultrastructural and morphometric analysis was performed on human myocardial left ventricle, obtained during surgical heart operations on normally loaded ventricles. The diagnoses of the patients were

- a) Persistant foramen ovale
- b) Atrial septal defect stage (I.–II.)
- c) Mitral stenosis (stage III.–IV.).

The median values of left ventricular pressure were not pathologically elevated. The patients were divided in 2 groups, the younger one ranging from 5–15 years, the older from 42–78 years.

It was shown that the volume density of the interstitial tissue does not differ with the aging process. The number of the nuclei per test area of the heart muscle cells decreased within age ($P < 0.001$). This finding suggests a decreasing process in the number of the heart muscle cells and an increase in size of the individual myocardial cell. Increase in the volume density of myofibrils was demonstrated at electron microscopical level with aging ($P < 0.02$). The volume density of mitochondria is the same in both groups, whereas the volume density of the remaining cytoplasm (without myofibrils and mitochondria) decreases ($P < 0.05$). The numerical density of the mitochondria increased in the older patient group ($P < 0.001$).

Key words: Human myocardium – Left ventricle – Electron microscopy – Morphometry – Aging.

Mit dankenswerter Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft über den Sonderforschungsbereich SFB 104

Sonderdruckanforderungen an: Dr. M. Fleischer, Lehrstuhl für Medizinische Cytobiologie, Westring 3, D-4400 Münster, Bundesrepublik Deutschland

Zusammenfassung. Licht- und elektronenmikroskopisch wurde mit einem manuell-optischen Bildanalysesystem eine morphometrische Analyse am Herzmuskel durchgeführt. Das Untersuchungsgut stammte aus nicht belasteten menschlichen linken Ventrikeln, welches bei herzchirurgischen Eingriffen gewonnen wurde.

Bei den Patienten lag entweder ein Foramen ovale persistens, ein Vorhofseptumdefekt (ASD) I.–II. Grades oder eine reine Mitralklappenstenose III.–IV. Grades vor. Die linken Kammerdruckmittelwerte lagen im Normbereich. Das Patientengut konnte in eine junge Patientengruppe von 5–15 Jahren und in eine alte Patientengruppe von 42–78 Jahren unterteilt werden.

Lichtmikroskopisch wurde ermittelt, daß sich der Anteil des Interstitium am Herzmuskelgewebe mit dem Alter nicht verändert. Die Anzahldichte der Herzmuskelzellkerne nimmt im Alter ab ($P < 0,001$), was auf eine Verringerung der Anzahldichte der Herzmuskelzellen pro Testvolumen und eine Vergrößerung der einzelnen Herzmuskelzelle schließen läßt.

Elektronenmikroskopisch konnte eine Vermehrung der Volumendichte der Myofibrillen ($P < 0,02$) mit zunehmendem Alter nachgewiesen werden, während die Volumendichte der Mitochondrien konstant bleibt und die Volumendichte des restlichen Cytoplasmas sogar abnimmt ($P < 0,05$).

Die Anzahl der Mitochondrien erhöht sich im Alter ($P < 0,001$), so daß bei den einzelnen Mitochondrien mit zunehmendem Alter eine Verkleinerung eintritt.

Einleitung

Zahlreiche elektronenmikroskopische Untersuchungen an menschlichem und tierischem Herzmuskelmaterial haben im wesentlichen ein einheitliches und reproduzierbares Schädigungsmuster ergeben. Je nach Art der Grundkrankheit oder Fragestellung im Tierexperiment konnte eine bevorzugte Schädigung verschiedener Zellorganellen auf ultrastruktureller Ebene beobachtet werden (Carney und Brown, 1964; Ganote et al., 1975; Hearse und Stewart, 1974; Meessen, 1967; Schulze et al., 1966; Unger und Ratliff, 1975). Auch bei biopsisch gewonnenem Herzmuskelgewebe vom Menschen sind zahlreiche ultrastrukturelle Alterationen von Zellorganellen beschrieben worden (Dowlatshahi und Hunt, 1969; Ferrans, 1972; Kajihara et al., 1973; Maron et al., 1975a, b; Olsen, 1975; Saetersdal., 1976). Dabei sind über die Vermehrung oder die Verminderung von Zellorganellen bisher beim menschlichen Herzmuskelmaterial rein subjektiv quantitative Aussagen gemacht worden. An tierischem Herzmuskelmaterial sind dagegen erste morphometrische Untersuchungen erstellt worden (Herbener, 1976; Herbener et al., 1973; Matter, 1973; McCallister, 1965; Page, 1973; Poche et al., 1968; Reith und Fuchs, 1973; Schmalbruch, 1970; Tate und Herbener, 1976; Winkler et al., 1977). Der derzeitige Stand der Untersuchung hat uns veranlaßt, feinstrukturell-morphometrische Untersuchungen an Herzmuskelgewebe und Herzmuskelzellen der Kammerwand des menschlichen linken Ventrikels durchzuführen.

In der vorliegenden Studie wurden lichtmikroskopisch über die prozentuale

Zusammensetzung des Herzmuskelgewebes und elektronenmikroskopisch über die Anteile der einzelnen Kompartimente der Herzmuskelzellen Basisparamenter erarbeitet. Naturgemäß ist es unmöglich, normales vitales menschliches Herzmuskelgewebe für elektronenmikroskopische Untersuchungszwecke zu erhalten. So waren wir auf Biopsiematerial beschränkt, welches bei herzchirurgischen Eingriffen gewonnen wurde. Bei den meisten Herzvitien ist die Muskulatur des linken Ventrikels durch eine Druck- und/oder Volumenbelastung reaktiv alteriert. Aus dem zur Verfügung stehenden Untersuchungsmaterial wurde deshalb Gewebe ausgesucht, das per definitionem von Patienten mit nicht belasteten linken Ventrikeln stammt: es wurden die Biopsien von linken Ventrikeln ausgewählt, bei denen eine Druck- und/oder Volumenbelastung auf Grund der Katheter- und Operationsbefunde auszuschließen waren (Tabelle 1). Es wird weiterhin auf Grund der bisherigen Befunde davon ausgegangen, daß sich entzündliche Erkrankungen des Myocards überwiegend interstitiell ohne Mitbeteiligung der Herzmuskelzellen abspielen.

Material und Methoden

Aus einem Biopsiekollektiv von 150 Patienten wurden 18 Patienten ausgewählt, bei denen die linke Kammerwand auf Grund der klinischen und operativen Befunde als normal angesehen werden kann. Keiner der Patienten war im dekompensierten cardialen Zustand. Der Beschwerdegrad nach der NYHA lag bei II.-III. Dieses Patientengut konnte in eine junge Altersgruppe von 5-15 Jahren und in eine alte Altersgruppe von 42-78 Jahren unterteilt werden. Es lag bei den jungen Patienten ein Foramen ovale persistens oder ein Vorhofseptumdefekt (ASD) I.-II. Grades und bei den alten Patienten ein Vorhofseptumdefekt II. Grades oder eine reine Mitralklappenstenose III.-IV. Grades vor. Dabei lagen die mit Hilfe eines Herzkatheters praec- und intraoperativ ermittelten systolischen und enddiastolischen Druckwerte im linken Ventrikel und ebenso die Sauerstoffsättigungswerte alle im Normbereich (Tabelle 1).

Die Biopsien wurden jeweils an derselben Stelle transmural aus der Vorderwand des linken Ventrikels etwa 2-2,5 cm einwärts der Herzspitze vor Anlegen der extrakorporalen Zirkulation unter gleichen operativen Bedingungen (Harmjanz et al., 1971) entnommen und der elektronenmikroskopischen Aufarbeitung zugeführt. Das Gewebe wurde mit 3%igem Glutaraldehyd in 0,05 M Phosphatpuffer pH 7,2 fixiert, in 0,05 M Phosphatpuffer pH 7,2 gewaschen, in 1,33% OsO₄ nachfixiert, erneut in 0,05 M Phosphatpuffer gewaschen, in aufsteigender Alkoholreihe entwässert und in Epon 812 eingebettet. Es wurden sowohl Semidünnabschnitte (1 µm) als auch Ultradünnabschnitte (400 Å) mit dem Porter-Blum-Mikrotom angefertigt. Die lichtmikroskopische Untersuchung erfolgte mit dem Leitz-Dialux, die elektronenmikroskopische mit den Elektronenmikroskopen EM 300 und 301 der Firma Philips, die beide mit einer 35-mm-Kamera ausgerüstet waren, mit denen das Bildmaterial erstellt wurde. Die Filmnegative wurden umkopiert und mit dem manuell-optischen Bildanalysesystem M.O.P. KM II der Firma Kontron nach den Prinzipien von Weibel (1969) untersucht. Das morphometrische Auswertungssystem besteht aus einem Projektionsgerät mit Lichtkasten, dem Zählgerät M.O.P. KM II der Firma Kontron und dem im "on-line"-Verfahren gekoppelten programmierbaren Tischrechner P 652 der Firma Olivetti mit angeschlossener Schreibmaschine.

Für die morphometrische Untersuchung wurden von den Biopsien jeweils 10 Gewebeblöckchen angefertigt und eingebettet. Davon wurden je Biopsie 6 Blöckchen nach Zufallskriterien ausgesucht und aufgearbeitet. Die Auswertung erfolgte unter besonderer Berücksichtigung der morphologischen Gegebenheiten des Herzmuskels, der eine gerichtete Struktur darstellt, jedoch unabhängig vom Schneidewinkel morphometrisch analysiert werden kann (Eisenberg et al., 1974; Fawcett et al., 1969; Stenger und Spiro, 1961; Weibel, 1972).

a) Lichtmikroskopisch wurden je Block 6 Präparatstellen bei der Vergrößerungsstufe 1175:1 untersucht. Es wurde in den Strahlengang des Lichtmikroskops ein quadratisches Testgitter mit 32 Testlinien mit einer jeweiligen Länge von 10 cm in das Präparat eingespiegelt. Die endgültige Testflä-

Tabelle 1

Nr.	Alter	Geschlecht	Diagnose	Druckwerte	
				syst. (mm/Hg)	enddiast. (mm/Hg)
Junge Patienten					
1	7 J.	m	ASD II + PST	100	10
2	6 J.	m	Sin. Ven. Def.	115	10
3	5 J.	m	valv. PST	95	5
4	13 J.	w	ASD II + 2 Def.	100	7
5	8 J.	w	Sin. Ven. Def.	105	8
6	8 J.	m	ASD II	115	8
7	15 J.	m	ASD I	110	7
8	6 J.	w	off. For. ovale + valv. + inf. PST	130	10
9	8 J.	m	ASD II + valv. PST	70	9
Alte Patienten					
1	45 J.	w	Mitralstenose III°	100	8
2	46 J.	w	Mitralstenose IV°	115	5
3	45 J.	w	Mitralstenose III°	110	5
4	58 J.	w	Mitralstenose IV°	105	5
5	53 J.	w	Mitralstenose IV°	100	8
6	46 J.	w	ASD II	115	10
7	49 J.	w	Mitralstenose IV°	110	5
8	42 J.	w	Mitralstenose III°	140	10
9	78 J.	m	Adam-Stokes-Anf.	120	—

che im Lichtmikroskop betrug dabei $7243 \mu\text{m}^2$. Insgesamt wurden lichtmikroskopisch 18 Patienten \times 36 Gesichtsfelder = 648 Testflächen ausgewertet. Die lichtmikroskopisch ermittelten Parameter beziehen sich auf das Referenzsystem cm^3 Herzmuskelgewebe, während sich die elektronenmikroskopisch ermittelten Parameter auf das Referenzsystem cm^3 Herzmuskelzellen beziehen.

b) Elektronenmikroskopisch wurden pro Gewebeblock bei den Primärvergrößerungsstufen 2000:1 und 7200:1 je 6 Mikrofotografien angefertigt und umkopiert. Die auf ein Meßraster projizierten elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden bei den Sekundärvergrößerungen 23000:1 und 83000:1 ausgewertet. Bei der niedrigen Vergrößerung hatte das Meßraster mit 891 Testpunkten eine Testfläche von $111,2 \mu\text{m}^2$ und bei der höheren Vergrößerung mit 2916 Testpunkten eine Testfläche von $10,6 \mu\text{m}^2$.

Insgesamt basiert die vorliegende elektronenmikroskopische Analyse der 18 Patienten auf der Auswertung von 1296 Mikrofotografien.

Folgende Primärparameter wurden an Mikrofotografien wie in Abbildung 1 ermittelt:

a) lichtmikroskopisch bei 1175:1

V_{VZ} = Volumendichte der Herzmuskelzellen in % des Einheitsvolumens

V_{VI} = Volumendichte des Interstitiums in % des Einheitsvolumens

V_{VZK} = Volumendichte der Herzmuskelzellkerne in % des Einheitsvolumens

N_{AZK} = Anzahl der Zellkernanschnitte pro cm^2 Testfläche

b) elektronenmikroskopisch bei 23000:1

V_{VMy} = Volumendichte der Myofibrillen in % des Einheitsvolumens

V_{VMi} = Volumendichte der Mitochondrien in % des Einheitsvolumens

V_{VCyt} = Volumendichte des freien restlichen Cytoplasmas in % des Einheitsvolumens

N_{AMi} = Anzahl der Mitochondrienanschnitte pro cm^2 Testfläche

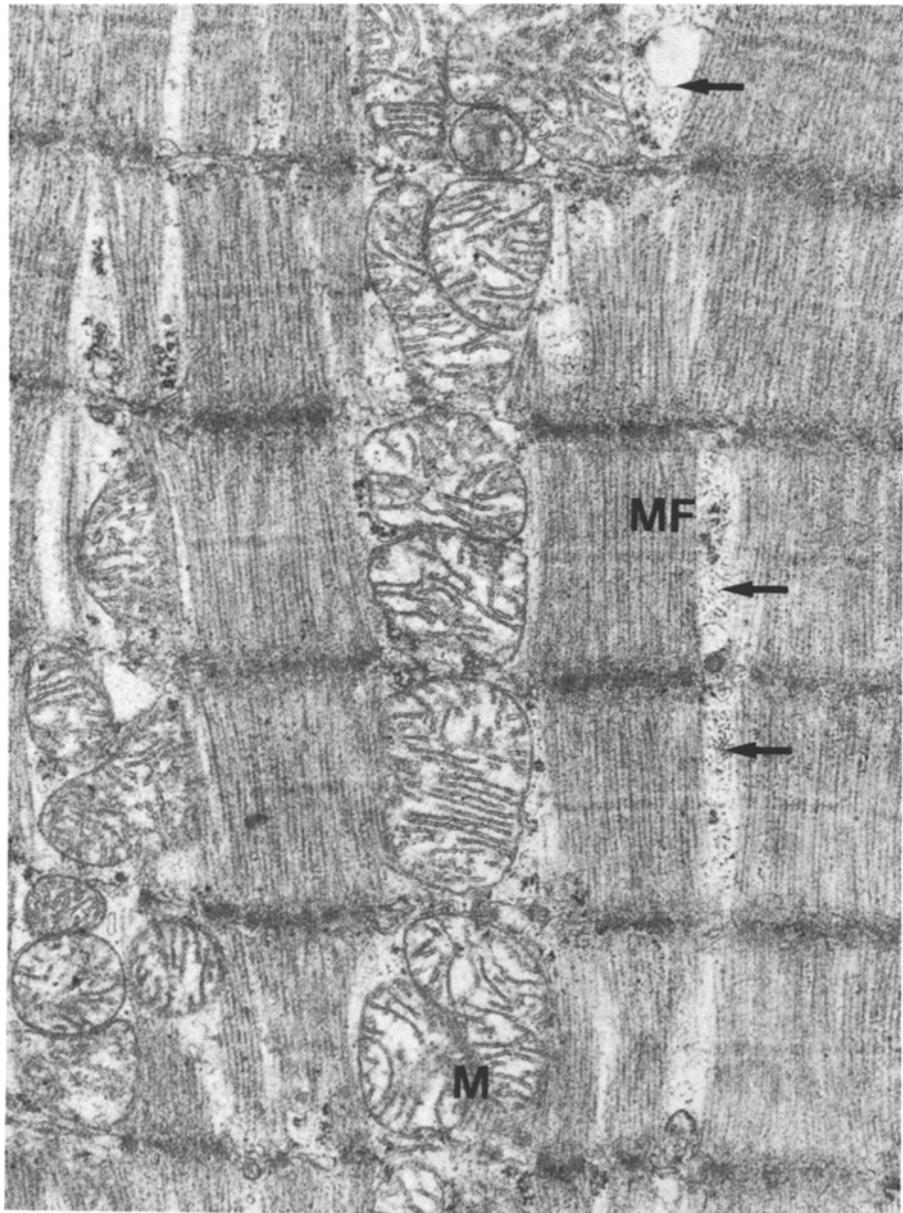


Abb. 1. Ausschnitt aus einer normalen Herzmuskelzelle mit regelrechter Anordnung der Myofibrillen (MF). Die parallele kettenförmige Anordnung der Mitochondrien (M) ist erhalten. Die Pfeile weisen auf Areale freien Cytoplasmas. Weibliche Patientin, 45 Jahre, Mitralklappenstenose III. Grades, 110/5 mm Hg, Herzgewicht 400 g. Vergr.: 23600:1

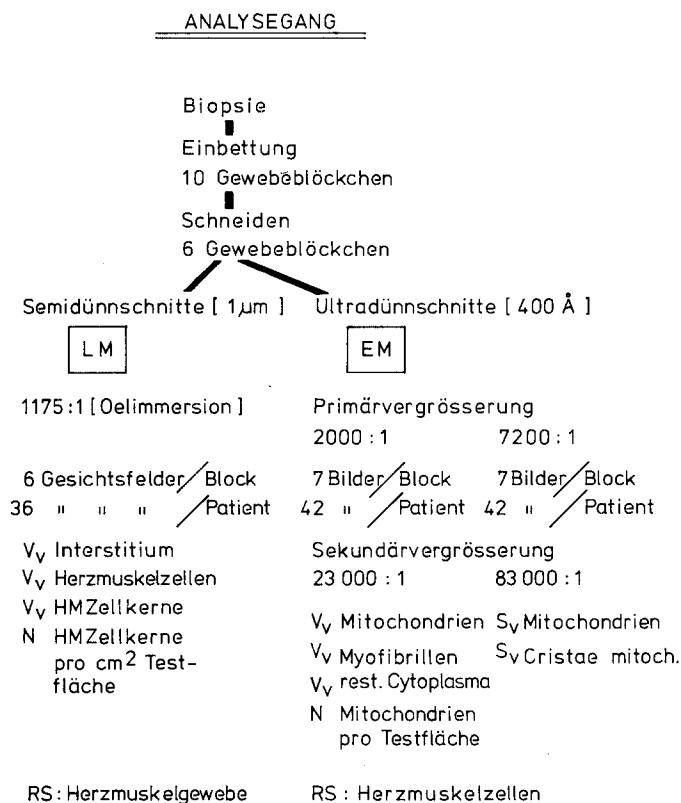


Abb. 2. Schematische Darstellung des licht- und elektronenmikroskopischen Analyseganges bei der morphometrischen Untersuchung der Herzmuskelbiopsien. V_v =Volumendichte, S_v =Oberflächendichte, N =Anzahl, RS =Referenzsystem

c) Elektronenmikroskopisch bei 83 000:1

S_{vMi} =Oberflächendichte der Mitochondrienaßenmembran in cm² pro cm³ Testvolumen

S_{vCr} =Oberflächendichte der Cristae mitochondriales in cm² pro cm³ Testvolumen

Das Präparationsverfahren sowie die Durchführung der morphometrischen Analyse ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt.

Die Rohparameter wurden, bevor sie in die Sekundärparameter wie Volumen-, Oberflächen- und Anzahldichte umgerechnet wurden, einer mathematischen Transformation nach der "Gruppierungsmethode" (Mayhew und Cruz Orive, 1974; Lorenz, 1977) unterzogen. Die Verteilung der ausgemessenen und transformierten Parameter der Kammerwandanschnitte wurde mit der Normalverteilung verglichen. Der benutzte Kolmogoroff-Smirnoff-Test wies dabei keine statistische Signifikanz auf ($P < 0,05$). Die Varianzanalyse wurde nach Hartley durchgeführt. Als letzter statistischer Test wurde der t -Test nach Student durchgeführt. Die hierbei auftretenden Signifikanzen wurden in die Diagramme übernommen.

Ergebnisse

a) Lichtmikroskopisch

Die Bestimmung der Volumendichte der Herzmuskelzellen in den LM-Präparaten führte bei der jungen Patientengruppe, die im Gegensatz zur Elektronenmi-

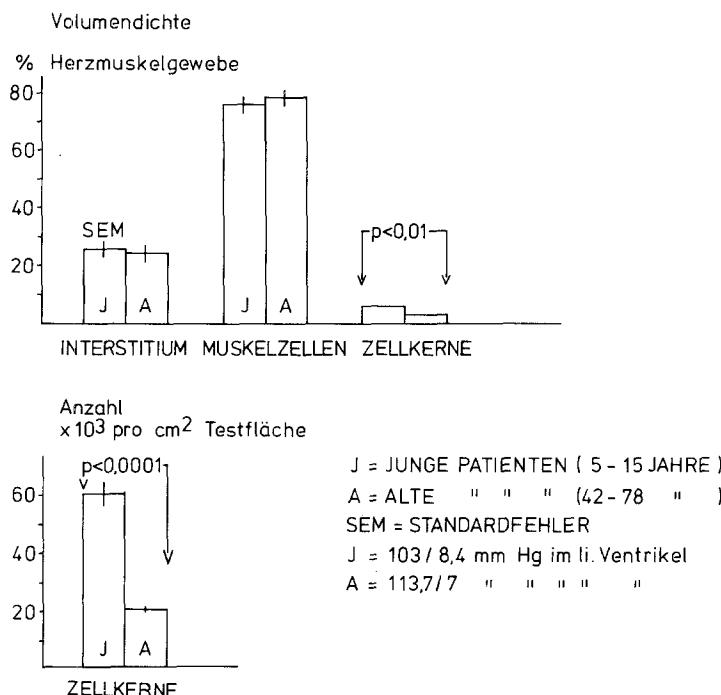


Abb. 3. Lichtmikroskopische Ergebnisse der morphometrischen Analyse

kroskopie 10 Patienten umfaßte, zu 76,09% des Einheitsvolumens und bei der alten Patientengruppe zu 76,83% des Einheitsvolumens. Die Werte für die Volumendichte des Interstitiums in % des Einheitsvolumens beliefen sich auf 23,91% für die junge und 23,17% für die alte Patientengruppe.

Die Volumendichte der Zellkerne in dem untersuchten Material verringerte sich von 4,79% bei den jungen Patienten auf 2,18% bei den alten Patienten. Diese Verringerung der Volumendichte der Herzmuskelzellkerne war mit $P < 0,001$ signifikant.

Bei der Anzahl der Herzmuskelzellkerne pro cm^2 Testfläche ergab sich ebenfalls mit einer Signifikanz von $P < 0,0001$ eine Verringerung von $60,566 \times 10^3$ bei den jungen Patienten auf $20,826 \times 10^3$ Zellkernen bei den alten Patienten. Die lichtmikroskopischen Ergebnisse sind in Abbildung 3 grafisch dargestellt.

b) Elektronenmikroskopisch

Die Volumendichte der Myofibrillen in den Herzmuskelzellen betrug bei den jungen Patienten 47,12% und bei den alten Patienten 52,0% des Einheitsvolumens ($P < 0,02$). Die Werte für die Volumendichte der Mitochondrien beliefen sich auf 34,5% bei den jungen Patienten und auf 34,1% bei den alten Patienten, während sich die Volumendichten des freien Cytoplasma von 17,4% auf 13,2% verringerten. Der Vergleich dieser beiden Werte zeigte eine Signifikanz von

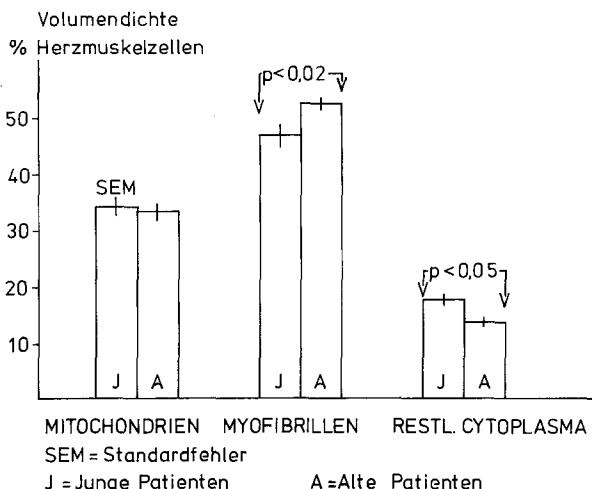


Abb. 4.
Elektronenmikroskopische Ergebnisse der morphometrischen Analyse bei der Sekundärvergrößerung 23000:1

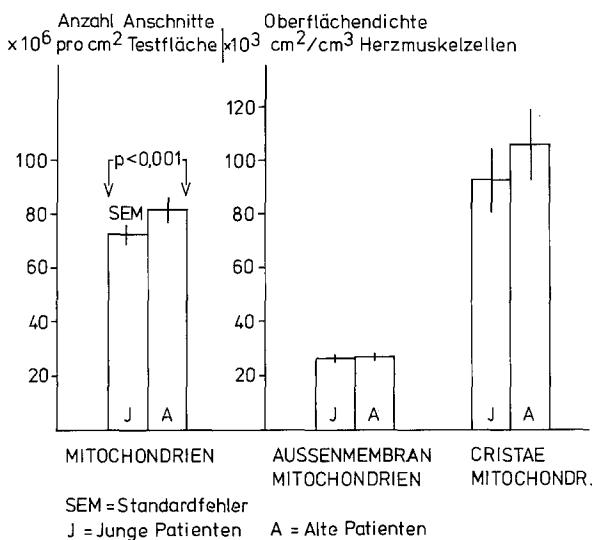


Abb. 5.
Elektronenmikroskopische Ergebnisse der morphometrischen Analyse bei der Sekundärvergrößerung 83000:1

$P < 0,05$. Die Anzahldichte der Mitochondrien bei den jungen Patienten betrug $74,606 \times 10^6$ pro cm^2 Testfläche, während sie sich bei den alten Patienten auf $89,433 \times 10^6$ pro cm^2 Testfläche erhöhte. Diese Steigerung war mit $P < 0,001$ statistisch signifikant (Abb. 4).

Bei der Untersuchung der Oberflächendichte der Mitochondrien ergaben sich zwischen den beiden Werten $26,6 \times 10^3$ und $26,9 \times 10^3$ cm^2 pro cm^3 Testvolumen keine signifikanten Unterschiede. Den Werten der Membranen der Oberfläche der Mitochondrien stand ein anderes Verhalten der Oberflächendichte der Membranen der Cristae mitochondriales gegenüber. Diese erhöhte sich von $92,61 \times 10^3$ auf $107,05 \times 10^3$ cm^2 pro cm^3 Testvolumen (Abb. 5).

Die Druckmittelwerte lagen bei den jungen Patienten im linken Ventrikel

bei p-systolisch: 103 mm Hg, bei p-enddiastolisch: 8,4 mm Hg und bei den alten Patienten bei p-systolisch: 113,7 mm Hg und bei p-enddiastolisch 7,0 mm Hg.

Diskussion

Der Vergleich der lichtmikroskopisch ermittelten Werte der Volumendichte der Herzmuskelzellen und des Interstitiums ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen der jungen Patientengruppe, die 9 Patienten im Alter von 5–15 Jahren umfaßte und der alten Patientengruppe, die 9 Patienten im Alter von 42–78 Jahren umfaßte. Die einzigen in dieser Untersuchung festgestellten signifikanten Unterschiede wiesen die Herzmuskelzellkerne auf. Signifikant nahmen sowohl die Volumendichte ($P < 0,001$) als auch die Anzahldichte der Zellkerne ($P < 0,0001$) beim Kollektiv der alten Patienten ab.

Jeder Herzmuskelzelle kann ein Zellkern zugeordnet werden. Die Volumendichte der Herzmuskelzellen bleibt trotz Verminderung der Anzahl der Herzmuskelzellkerne zwischen den beiden Patientengruppen aber unverändert. Eine Verringerung der Anzahl der Zellkerne bedeutet deshalb eine Verringerung der Anzahl der Herzmuskelzellen. Aus diesen Betrachtungen muß der Schluß gezogen werden, daß sich mit zunehmendem Alter die einzelne Herzmuskelzelle vergrößert. Damit wurde quantitativ eine qualitative lichtmikroskopische Beobachtung an Herzmuskelgewebe bestätigt, nach der sich die einzelnen Herzmuskelzellen im Alter vergrößern.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung zeigte bei der Volumendichte der Myofibrillen eine signifikante Steigerung ($P < 0,02$) von 47,12% des Einheitsvolumens bei den jungen Patienten auf 52,0% bei den alten Patienten. Neben einer Vergrößerung der einzelnen Herzmuskelzellen zeigt dieses Ergebnis, daß sich mit zunehmendem Alter der Anteil der Myofibrillen in der Herzmuskelzelle ebenfalls erhöht. Wenn man davon ausgeht, daß mit zunehmendem Alter das Myocard eine größere Arbeitsleistung auf Grund der Gefäßveränderungen und damit verbundenen Widerstandserhöhungen aufbringen muß, wird dieses Ergebnis des erhöhten Volumenanteils der Myofibrillen als Prozeß der Anpassung verständlich. Da der Herzmuskel in der jungen Patientengruppe noch nicht als ausgewachsen angesehen werden kann, dürfte weiterhin der Wachstumsgrad diesen Unterschied als summierender Faktor mit beeinflussen. Die Volumendichte der Myofibrillen erhöht sich dabei auf Kosten des freien Cytoplasmas. Dieses hat bei den jungen Patienten einen Volumenanteil von 17,4%, während es sich bei den alten Patienten auf 13,2% mit $P < 0,05$ statistisch signifikant verringert.

Als dritte Volumendichte wurde die der Mitochondrien ermittelt. Wider Erwarten bleibt sie mit 34,5% bei den jungen Patienten und mit 34,1% bei den alten Patienten etwa gleich, so daß ein gleiches Mitochondrienvolumen im Alter eine erhöhte Volumendichte Myofibrillen zu versorgen hat. Im Gegensatz zu diesem Ergebnis erhielten in ihren quantitativen Untersuchungen am Mäusemyocard Herbener (1976) und Tate und Herbener (1976) eine Abnahme der Volumendichte der Mitochondrien mit zunehmendem Alter, während McCallister (1965) eine Vergrößerung der Einzelmitochondrien feststellte.

Mit den gleichen Volumendichten der Mitochondrien bei jungen und alten Patienten korrelieren die Oberflächendichten der Mitochondrien. Diese sind mit $26,6 \times 10^3$ und $26,9 \times 10^3 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$ ebenfalls nahezu unverändert. Diese beiden Resultate lassen sich auf den ersten Blick sehr schwer mit der Anzahl der Mitochondrien in Einklang bringen. Die Anzahl erhöht sich von $74,606 \times 10^6$ auf $89,433 \times 10^6/\text{cm}^2$ Testfläche ($P < 0,001$). Diese Zunahme kann aber durch die äußere Form der Mitochondrien erklärt werden. Wenn bei gleichen Volumendichten und gleichen Oberflächendichten der Mitochondrien die Anzahldichte zunimmt, müssen sich die einzelnen Mitochondrien verkleinert und in ihrer äußeren Gestalt der Kugelform genähert haben. Die qualitativen Untersuchungen nahmen dieses Ergebnis schon vorweg.

Neben der Erhöhung der Anzahldichte der Mitochondrien tritt bei der Oberflächendichte der Cristae mitochondriales ebenfalls eine Vermehrung auf. Die Oberflächendichte erhöht sich von 92,61 auf $107,05 \times 10^3 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$ Testvolumen. Diese Werte zeigen jedoch im *t*-Test keine statistische Signifikanz, so daß eine letztliche Beurteilung der Verhältnisse einer weiteren Untersuchung mit vergrößerten Kollektiven vorbehalten bleiben muß.

Im Vergleich zum Tiermaterial finden sich im vorliegenden menschlichen Biopsiematerial gelegentlich Mitochondrienakkumulationen, deren Häufigkeit und Ausmaß bei den pathologisch belasteten linken Ventrikeln in den Herzmuskelzellen im Vergleich zu den per definitionem normalen menschlichen linken Ventrikeln stark erhöht sind. Das Verhalten der Herzmuskelzellen bei vorliegender Hypertrophie des linken Ventrikels soll in der Folgestudie untersucht werden.

Literatur

- Carney, J.A., Brown, A.L.: Myofilament diameter in the normal and hypertrophic rat myocardium. Am. J. Path. **44**, 521–529 (1964)
- Dowlatabadi, I., Hunt, A.C.: Electron microscopical findings in hypertrophied human ventricle. Brit. Heart J. **31**, 200–205 (1969)
- Eisenberg, B.R., Kuda, A.M., Peter, J.B.: Stereological analysis of mammalian skeletal muscle. Soleus muscle of the adult guinea pig. J. Cell Biol. **60**, 732–754 (1974)
- Fawcett, D.W., McNutt, S.N.: The ultrastructure of the cat myocardium. J. Cell Biol. **42**, 1–45 (1969)
- Ferrans, V.J., Morrow, A.G., Roberts, W.C.: Myocardial ultrastructure in idiopathic hypertrophic subaortic stenosis. A study of operatively excised left ventricular outflow tract muscle in 14 patients. Circulation **45**, 769–792 (1972)
- Ganote, Ch. E., Seabra-Gomes, R., Nayler, W.-G., Jehnungs, R.B.: Irreversible myocardial injury in anoxic perfused rat hearts. Am. J. Path. **80**, 419–438 (1975)
- Harmjanz, D., Reale, E., Luciano, L., Ostertag, P.: Die Endomyokardbiopsie als Hilfsmittel in der Diagnostik von Myokarderkrankungen. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **77**, 1263–1267 (1971)
- Hearse, D.J., Stewart, D.A.: Functional recovery of the myocardium after elective cardiac arrest in the isolated rat heart. Lancet **74**, 192–194 (1974)
- Herbener, G.H.: A morphometric study of age-dependent changes in the mitochondrial populations of mouse liver and heart. J. Gerontol. **31**, 8–12 (1976)
- Herbener, G.H., Swigart, R.H., Lang, C.H.: Morphometric comparison of the mitochondrial populations of normal and hypertrophic hearts. Lab. Invest. **28**, 96–103 (1973)
- Kajihara, H., Taguchi, K., Hara, H., Iijima, S.: Electron microscopic observation of human hypertrophied myocardium. Acta Path. Jap. **23**, 335–347 (1973)
- Lorenz, R.J.: Statistical problems in estimating volume proportions by the point counting method. Microsc. Acta Suppl. **1**, 195–196 (1977)

- Maron, B.J., Ferrans, V.J., Roberts, W.C.: Ultrastructural features of degenerated cardiac muscle cells in patients with cardiac hypertrophy. *Am. J. Pathol.* **79**, 387–434 (1975)
- Maron, B.J., Ferrans, V.J., Roberts, W.C.: Myocardial ultrastructure of degenerated muscle cells in patients with chronic aortic valve disease. *Am. J. Card.* **35**, 725–739 (1975)
- Matter, A.: A morphometric study on the nexus of rat cardiac muscle. *J. Cell Biol.* **56**, 690–696 (1973)
- Mayhew, T.M., Cruz Orive, L.M.: Caveat on the use of the Delesse principle of areal analysis for estimating component volume densities. *J. Microsc.* **102**, 195–207 (1974)
- McCallister, B.: A quantitative study of myocardial mitochondria in experimental cardiac hypertrophy. *Lab. Invest.* **14**, 692–700 (1965)
- Meessen, H.: Morphologische Grundlagen der akuten und der chronischen Myokardinsuffizienz. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **51**, 31–64 (1967)
- Olsen, E.G.J.: Pathological recognition of cardiomyopathy. *Postgrad. Med. J.* **51**, 277–287 (1975)
- Page, E.: Morphometry of mitochondrial membranes and profile size distribution in rat heart. *J. Cell Biol.* **59**, 156 (1973)
- Poche, R., Mello Mattos, C.M., Rembarz, H.W., Stoepel, K.: Über das Verhältnis Mitochondrien: Myofibrillen in den Herzmuskelzellen der Ratte bei Druckhypertrophie des Herzens. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **344**, 100–110 (1968)
- Reith, A., Fuchs, S.: The heart muscle of the rat under influence of triiodothyronine and riboflavin deficiency with special references to the mitochondria. A morphological and morphometric study. *Lab. Invest.* **29**, 229–235 (1973)
- Saetersdal, T.S.: Ultrastructural studies on the growth of filaments and sarcomeres in mechanically overloaded human heart. *Virchows Arch. B Cell Path.* **21**, 91–112 (1976)
- Schmalbruch, H.: Quantitativ-morphologische Untersuchungen an Herzmuskelzellen von normalen und hypoxischen Ratten. *Z. Zellforsch.* **109**, 384–397 (1970)
- Schulze, W., Kleitke, B., Wollenberger, A.: Über das Verhalten der Mitochondrien des Rattenherzens bei verschiedenen Formen langdauernder Herzbelastung. *Verh. Dtsch. Ges. exp. Med.* **8**, 441–443 (1966)
- Stenger, R.J., Spiro, D.: Structure of the cardiac muscle cell. *Am. J. Med.* **30**, 653–665 (1961)
- Tate, E.L., Herbener, G.H.: Morphometric study of the density of mitochondria cristae in heart and liver of aging mice. *J. Gerontol.* **31**, 129–134 (1976)
- Unger, St.W., Ratliff, N.B.: The relationship of actin und myosin filaments within myocardial zonal lesions. *Am. J. Pathol.* **80**, 471–476 (1975)
- Weibel, E.R.: Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *International Review of Cytology* **26**, 235. New York and London: Academic Press 1969
- Weibel, E.R.: A stereological method for estimating volume and surface of sarcoplasmic reticulum. *J. Microscopy* **95**, 229–242 (1972)
- Winkler, B., Schaper, J., Thiedemann, K.U.: Hypertrophy due to chronic volume overloading in the dog heart. A morphometric study. *Basic Res. Cardiol.* **72**, 222–227 (1977)

Eingegangen am 14. April 1978