

Aus dem Institut für Pathologie
der Tierärztlichen Hochschule Hannover

**Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen
der sogenannten »asteroiden Körperchen«
in den arteriellen Gefäßen des Pferdes**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
DOCTOR MEDICINAE VETERINARIAE
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover

Vorgelegt von
Arôlido Cedraz de Oliveira
aus Valente / Brasilien

Hannover 1982

Gedruckt mit Unterstützung des Deutschen Akademischen Austauschdienstes

**Aus dem Institut für Pathologie
der Tierärztlichen Hochschule Hannover**

**Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen
der sogenannten »asteroiden Körperchen«
in den arteriellen Gefäßen des Pferdes**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
DOCTOR MEDICINAE VETERINARIAE
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover**

**Vorgelegt von
Arôlido Cedraz de Oliveira
aus Valente / Brasilien**

Hannover 1982

Wissenschaftliche Betreuung: Prof.Dr.DDr.h.c. L.C1. Schulz

1. Berichterstatter: Prof.Dr.DDr.h.c. L.C1. Schulz

2. Berichterstatter: Prof.Dr. R. Schwarz

Tage der mündlichen Prüfung: 22. - 24.06.1982

FÜR ELIANA
UND TIAGO

INHALTSVERZEICHNIS	Seite
1. EINLEITUNG	5
2. LITERATUROBERSICHT	7
2.1. Morphologische Aspekte der asteroiden Körperchen	7
2.2. Beziehungen zu anderen Erkrankungen	12
2.3. Vergleichbare Gefäßveränderungen anderer Spezies	12
2.4. Allgemeine Mineralisierungsstörungen	13
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	15
3.1. Material und Methode	15
3.2. Ergebnisse	18
3.2.1. Lupenuntersuchung	18
3.2.2. Lichtmikroskopische Auswertung	18
3.2.3. Rasterelektronenmikroskopische Befunde	25
3.2.4. Transmissionselektronenmikroskopische Befunde	29
3.2.5. Energiedispersive Röntgenmikroanalyse (EDXA)	41
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	54
5. ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY / RESUMO	61
6. LITERATURVERZEICHNIS	66

1. EINLEITUNG

Die "intimalen asteroiden Gebilde" (asteroide Körperchen, asteroide Entartungen, asteroide Verkalkungen) der kleinen Arterien bei Pferden wurden bereits im Jahre 1869 von BOLLINGER beschrieben. Die Ätiologie und die Pathogenese dieser Veränderungen sind unklar. Zahlreiche Autoren erwähnen sie als Nebenbefunde (KRAUSE 1927; MAURER und McCULLY 1963; NIEBERLE und COHRS 1970; PAULI 1973). Auch die strukturelle Analyse ist nur unzureichend erfolgt. In der Intima kleiner Arterien des Menschen und der Tiere beobachtet man Ablagerungen ganz unterschiedlicher Substanzen (Weibel-Palade Bodies, Ghost bodies, dysplastische Kollagenfasern usw.), wobei ein Zusammenhang mit anfänglichen arteriosklerotischen und thrombotischen Prozessen diskutiert wird (TRILLO und PRICHARD 1979; JORIS und MAJNO 1974; STAUBESAND und FISCHER 1979).

Die Weichgewebsmineralisierung des tierischen Organismus ist 1855 von VIRCHOW in einerseits dystrophische und andererseits metastatische Vorgänge eingeteilt worden. Diese Einteilung hat auch heute noch Bestand.

Obwohl die Möglichkeit vergleichender Studien besteht, sind bisher wesentliche Mechanismen der Gefäßverkalkung unbekannt geblieben. HOBMAIER postulierte 1922 eine Verbindung zwischen dem Auftreten asteroider Gebilde und der Infektion durch *Strongylus vulgaris*. Auch andere Autoren vermuten einen Zusammenhang mit der Strongylose des Pferdes (ENIGK 1951b; SUTOH et al. 1976).

Eine Beziehung dieser Körperchen ist außerdem zu senilen Veränderungen (CONSTANTINESCU 1921) und den bei Virusarteriitis (Equine Virus Arteriitis, EVA) auftretenden Alterationen diskutiert worden (ROMBOLI et al. 1975). Als letzte haben MONTALI et al. (1970) über die Entstehung der "asteroid bodies" Vermutungen angestellt. Sie sehen diese als Entartungsprozesse der glatten Muskelzellen an und weisen auf die Bedeutung des Geschehens für die vergleichende Pathologie hinsichtlich der primären arteriosklerotischen Veränderungen hin.

Wegen des häufigen Auftretens der asteroiden Körperchen in kleinen Arterien des Pferdes und ihrer ungeklärten Pathogenese sollen diese unter Berücksichtigung des Alters der Tiere bezüglich ihrer Morphologie und

Topographie sowie unter quantitativen und qualitativen Aspekten licht-
mikroskopisch und ultrastrukturell untersucht werden.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Morphologische Aspekte der asteroiden Körperchen

Im Jahre 1869 werden die asteroiden Körperchen von BOLLINGER erstmals in der Literatur erwähnt. Er beschreibt sie als eigentümliche Korpuskeln, die in großer Zahl im Lumen der feinen Arterien des Intestinaltraktes von Pferden auftreten. Mit einfachen histologischen Untersuchungsmethoden wurden folgende Beobachtungen gemacht: Es handelt sich um farblose Körperchen unterschiedlicher Form und Größe, die meist rundlich, häufig oval oder länglich, seltener unregelmäßig ausgebildet sind. Sie haben einen Durchmesser von 0,006 - 0,02 μm . Weiterhin bestehen sehr kleine, nicht meßbare Formen. Typisch sind Ausläufer und Fortsätze, die nur bei den kleinen Formen fehlen. Durch Einkerbungen in den Konturen erhalten sie ein drusiges Aussehen und erinnern an Sporocysten, scheinbar aus Konglomeraten zusammengesetzt. Die Ablagerungen besitzen oft 3 - 6 stärkere, gabelförmig geteilte Fortsätze. An größeren Körperchen werden 20 - 30 solcher Ausläufer beobachtet. Meist handelt es sich um einzelne Ablagerungen oder um Anordnungen von 2 - 3, seltener 4 - 5 Körperchen in Haufenform. Eine Doppelkonturierung der Membran wird häufig festgestellt, wodurch die Ausläufer schließlich verschwinden und nur noch ein welliger Umriss zu sehen ist.

Die Körperchen liegen in den Arterien der Submucosa des Colons, Caecums, Ileums und des Magens. In einigen Fällen werden sie auch in Rectum, Leber, Milz, Niere und Lunge gesehen. Aus seinen Beobachtungen folgert BOLLINGER, daß die Körperchen in den Arterien des Darmkanales ihren Hauptsitz haben und keine Reaktion verursachen. Mit größter Wahrscheinlichkeit gelangen sie vom Darmlumen aus in die Gefäße. Aufgrund ihrer Ähnlichkeit werden sie für Gebilde parasitären Ursprungs gehalten und Beziehungen zu den Psorospermien diskutiert.

Von CONSTANTINESCU (1921) wird erneut auf solche Körperchen aufmerksam gemacht. Er findet sie in der Intima der Uterusarterien alter Pferde. Diese Intimagebilde färben sich mit Hämatoxylin stark blau-violett, zeigen aber keine Kalk-, Hyalin- oder Amyloidreaktion. Auch war eine

Schleimfärbung negativ. Ihre Herkunft wird nicht ermittelt, der Zusammenhang mit der senilen Atrophie des Uterus vermutet.

Bei Untersuchungen anlässlich einer Fohlenseuche in Angermünde werden von HOBMAIER (1922) ähnliche Gefäßveränderungen beobachtet und beschrieben. Die asteroiden Körperchen werden als zelluläre Gebilde im Bereich der Gefäßintima angesehen. In den erkrankten Darmabschnitten sind die Venen unverändert, die kleinen arteriellen Gefäße dagegen, vor allem im Bereich ihrer Intima, auffallend degeneriert. Diese scheint stellenweise unterbrochen und ragt oft zapfenförmig oder buckelig in das deformierte Gefäßlumen vor. Zunächst ist ein Teil der Kerne stärker färbbar, später quellen sie kugelig auf und bilden kurze Fortsätze, die am Ende meist geknöpft sind. In Längsschnitten von kleinen Gefäßen befinden sich diese anomalen Zellen wie aufgereiht. In Querschnitten umsäumen sie das Gefäßlumen, doch fällt mitunter auch die Einlagerung derartiger Zellen in die Muscularis auf. Ihre Umgebung zeigt sich in diesem Falle völlig kernlos, oder wenigstens ist die regelmäßige Kernanordnung aufgehoben. Vielfach erscheinen die Muskelzellen "wie durcheinander geschüttelt". Mit Hämatoxylin färben sich diese, nach Ansicht HOBMAIERS zellulären Elemente, tief blauschwarz. Sie erwecken den Eindruck von anorganischen Substanzen, die in und unter die Intima der Gefäße eingelagert sind, doch versagt der mikrochemische Nachweis in diesem Sinne völlig. Hingegen zeigen sie eine sehr deutliche Chromatinreaktion mit saurem Methylgrün. Auch von HOBMAIER werden die Veränderungen als Folgezustand nach Parasitenbefall interpretiert, wobei Toxinwirkungen oder ein mechanisches Trauma bei Rückwanderung von Wurmlarven aus der Blutbahn in das Darmlumen pathogenetisch in Frage kommen sollen. Der Sitz der Veränderung läßt den Zusammenhang mit Wurminfektionen erkennen. So liegt es nahe, daß diese Gefäßerkrankung bei genauer Untersuchung recht häufig gefunden wird, vielleicht sogar bei allen Infektionen, die mit Wanderungen von Wurmembryonen in der Blutbahn verbunden sind (HOBMAIER 1922).

KRAUSE (1927) bespricht in einer umfangreichen Arbeit über die "Pathologie der Blutgefäße der Tiere" die kleinen, sternförmigen, kristallinen Gebilde in dem Kapitel "Regressive Metamorphosen". Betroffen von diesen Bildungen sind die präkapillären Darmarterien, danach folgen

die kleinen und kleinsten Arterien der Milz und des Gehirns. Außerdem beobachtet er sie sehr geringgradig in den Gefäßen von Magen, Nieren, Leber, Lunge, Schilddrüse, Nebenniere, des Herzens, des Knochenmarks und der Subkutis. Niemals verändert ist die Intima der kleinen Arterien der Skelettmuskulatur. Die Lokalisation betrifft immer nur die Intima. Der Lichtbrechungsindex beträgt 1,59 bis 1,63. Nach Angabe von KIKUCHI (1925) sollen die Körperchen eine Magnesium-Kalzium-Phosphorsäure Komplexverbindung sein. Außerdem wird behauptet, daß Verbindungen mit organischen Bestandteilen bestehen. Ungeklärt ist, wie diese mit den mineralischen Anteilen gekoppelt sind. Es besteht eine enge Beziehung zum Zellkern. Ursache und pathologische Bedeutung der asteroiden Entartung der Intima bleiben weiter ungeklärt. Es wird festgestellt, daß unter den regressiven Metamorphosen, die sich an den Blutgefäßwänden der Tiere spontan abspielen können, an erster Stelle die Verkalkung steht.

MARCUS und ROSS (1967) untersuchen die Herzmuskulatur von 18 Pferden und fünf Mausekeln lichtmikroskopisch. In 10 Fällen werden kleine basophile Körperchen in der Intima der kleinen Koronararterien festgestellt und als nicht-typische Lokalisationen bezeichnet. Die Verfasser finden diese basophilen Körperchen nur in den kleinen Muskelarterien. Sie zeigen eine konzentrische Schichtung und haben ein Verdichtungszentrum. Mit der Kossa-Färbung lassen sich Kalksalze darstellen. Die PAS-Reaktion verläuft positiv, was als ein sicherer Nachweis für saure Mukopolysaccharide gilt, deren Bildung aber unabhängig von Arterioskleroseprozessen abläuft. Als Möglichkeit wird eine postmortale Veränderung diskutiert.

NIEBERLE und COHRS (1970) interpretieren die Verkalkung der Intima als typische Primär- oder dystrophische Verkalkung. Die Körperchen werden als pseudoverkalkte Inkrustierung oder intimale asteroide Entartung bezeichnet. Ihrer chemischen Zusammensetzung nach sind es Kalzium- und Magnesiumphosphate und saure Mukopolysaccharide, die unter dem Endothel in Form kleiner Sterne gespeichert werden.

DAHME (1970) beschreibt, daß die Kalkablagerungen in der Arterienwand der Tiere in Form derber Körperchen, kleiner Schollen oder napfartiger Platten auftreten können. Die chemische Struktur der abgeschiedenen Kalksalze ist dabei nicht einheitlich; hauptsächlich handelt es sich jedoch um

phosphor- und kohlen-saures Kalzium, seltener um Salze der Schwefel- oder Oxalsäure. Auch organische Kalziumverbindungen (Kalkseifen usw.) werden angetroffen. Histologisch ist die Kossafärbung eine sichere Methode, zartere Kalkniederschläge nachzuweisen. Eine Sonderform von Verkalkungsvorgängen in der Arterienwand soll die sogenannte "Asteroide Entartung" der Intima kleiner Arterien des Pferdes darstellen. Bei dieser Veränderung handelt es sich nach Ansicht des Verfassers um eine offenbar harmlose Abscheidung von Kalkkomplexen in sternförmiger Anordnung. Von den sonstigen Arterienwandverkalkungen unterscheidet sich die "Asteroide Entartung" nicht nur durch die Form der Kristalle, sondern darüber hinaus auch noch durch deren Verhalten gegenüber verschiedenen Färbemethoden. Über die Entstehungsursachen liegen Deutungen vor, die jedoch noch keine Bestätigung erfahren haben und nicht näher erwähnt werden.

Von JUBB und KENNEDY (1970) wird die Arterien-Degeneration als eine Primärstörung der Gefäßwand beschrieben. Ödemflüssigkeit, reich an Mukopolysacchariden (MPS), wird in der Arterienintima gespeichert. Die Lamina elastica interna erscheint deutlich transformiert und erfährt eine partielle Duplikation, Aufsplitterung und Unterbrechungen, deren Ursache unklar ist. Die glatten Muskelzellen können die elastische Lage durchdringen und unter dem Endothel Kollagenfasern ausbilden. Das Endothel bleibt unverändert.

Bei den verkalkten Knötchen in der Aorta ascendens der Pferde handelt es sich wahrscheinlich um Wurm-Arteriitis-Narben oder ähnliche Verletzungen, die schon lichtmikroskopisch zu beobachten sind. In den Arterien der Darm-Submukosa von Pferden älter als sechs Monate sind oft Kalkablagerungen mit Eisensalzen gefunden worden, die sich mit zunehmendem Alter verfestigen.

PAULI (1973) beschrieb arteriosklerotische Veränderungen an intramuralen Koronararterien (IMCA) beim Pferd. Von 23 Tieren weisen 10 eine asteroide Intimadegeneration auf, von denen 8 Fälle gleichzeitig stenosierende arteriosklerotische Veränderungen zeigen. Die asteroide Entartung kleiner, intramuraler Arterien wird als eine besondere stenosierende Gefäßerkrankungsform bezeichnet. Diese Arteriopathie findet sich bei den untersuchten Pferden regelmäßig in den submukösen Arterien

des Magen- und Darmtraktes, während die Koronararterien nur bei einem Tier betroffen sind.

MONTALI et al. (1970) beschreiben histochemische Methoden und Untersuchungsverfahren zur Aufklärung der Ultrastruktur der asteroiden Körperchen, die von ihnen als "intimal bodies" bezeichnet werden. Das Untersuchungsmaterial stammt von 17 Pferden verschiedenen Alters (8 Tage bis 20 Jahre). Die lichtmikroskopische Untersuchung ergibt folgende Befunde: Die Körperchen bilden amphophile bis basophile, globoide und irreguläre Fortsätze, manchmal mit basophilem, unregelmäßigem Rand und eosinophilem Zentrum. Ihr Durchmesser beträgt 5 - 25 µm. Die meisten sind in den kleinen bis mittelgroßen Arteriolen des Magen-Darm-Traktes zu beobachten, durchschnittlich 3 - 10 Körperchen pro Gefäß. In Arteriolen mit vielen Körperchen ist die Intima oft "schaumig" und verdickt. Allerdings wird nichts mitgeteilt über Thromben oder Entzündungszellinfiltration. In 8 ausgewählten Fällen zeigen die Körperchen positive Reaktion beim Nachweis saurer Mukopolysaccharide mittels PAS-Reaktion sowie bei Färbungen mit Alcian Blau, Aldehyd Fuchsin und Verhoff-Van Gieson. Bei der Feulgen Reaktion färben sie sich diffus an. Sie enthalten Kalzium und Eisen, was durch die Kossa-Färbung dargestellt werden kann. Histochemisch sind nur die Enzyme Alkalische Phosphatase und Adenosintriphosphatase nachweisbar. In unterschiedlicher Zahl und Größe erscheinen die Intimakörperchen im subendothelialen Raum bei der Untersuchung im Transmissionselektronenmikroskop. Um die Gebilde lagert sich interzelluläres Material, wie z.B. aufgesplitterte Basalmembranbestandteile, elastische Fasern und zelluläre Trümmer ab. Sie sind fein abgegrenzt mit einem kompakten elektronendichten Rand, was für die Autoren auf einen membranösen Ursprung hindeutet. Im Inneren befinden sich elektronendichte Teilchen und Strukturen, die sich wie bizarre zytoplasmatische Organellen darstellen. Sie sind mit subendothelialen Zellen verbunden und haben die Morphologie glatter Muskelzellen. Ähnliche Strukturen, aber ohne den Nachweis von Zellbestandteilen, besitzen im Zentrum Kristalle, die stabförmig radiär angeordnet sind. Andere Formen lassen eine multilobuläre Gruppierung erkennen. Die periphere Zone ist oft aufgesplittert. Nach Meinung der Verfasser sind die Intima-Körperchen auf einen zellulären Degenerationsprozeß zurück-

zuföhren. Die Herkunft dieser Zellen ist nicht geklärt. Es wird keine Beziehung zur *Strongylus vulgaris*-Infektion angenommen.

2.2. Beziehungen zu anderen Erkrankungen

Die bei *Strongylus vulgaris*-Infektionen des Pferdes auftretenden Gefäßveränderungen sind von zahlreichen Autoren beschrieben worden (OLT 1900; BURNETT 1913; HOBMAIER 1922; RIS 1924; KIKUCHI 1925; KRAUSE 1927; ROMANOV 1929; OTTAWAY und BINGHAM 1941; ENIGK 1951 a,b; FARRELY 1954; POYNTER 1960, 1969; PAULI et al. 1971; COFFMAN und CARLSON 1971; GREATOREX 1975, 1977; PAULI et al. 1975; DUNCAN und PIRIE 1975; SUTOH et al. 1976; HOWELL 1977; OGBOURNE und DUNCAN 1977; SLOCOMBE et al. 1977; KADYROV 1979; CRANLEY und McCULLAGH 1981).

SKALINSKIJ (1957) kann nachweisen, daß absterbende Strongyliden-Larven in den Arterien Toxine freisetzen, die zu Kolikerscheinungen führen können. ROMBOLI et al. (1975) machen bei der Untersuchung der Equinen-Virus-Arteriitis (EVA) die Beobachtung, daß die Intimaveränderungen der kleinen Arterien und Venen zuerst subendothelial als Vorwölbungen in das Gefäßlumen erscheinen. Es handelt sich um fast gleichmäßig verkalkte, hyaline kugelige Elemente, die sich im Aussehen eindeutig von den "asteroiden Körperchen" unterscheiden und evtl. mit Immunitätsreaktionen im Zusammenhang stehen. Ähnliche Veränderungen bei EVA sind auch von CRAWFORD und HENSON (1972) beschrieben worden, allerdings haben diese Autoren das Vorkommen asteroider Körperchen nicht erwähnt. JONES et al. (1957) konnten bei der EVA nicht solche Alterationen ermitteln. MAURER und McCULLY (1963) stellen fest, daß die asteroiden Körperchen eine Veränderung unbekannter Ursache sind und nicht als Konsequenz der "African Horse-Sickness" in Frage kommen.

2.3. Vergleichbare Gefäßveränderungen anderer Spezies

Der Beteiligung der glatten Muskelzellen am Pathomechanismus von Thrombosen, Arteriosklerosen oder sonstigen Intimaveränderungen ist bei vielen Tierspezies bekannt. Die Myozyten spielen dabei eine Rolle im Regenerationsgeschehen (HAUST et al. 1960; BUCK 1961; GRESHAM und HOWARD 1964; GEER 1965; KNIERIEM et al. 1966, 1973; KNIERIEM 1967; BJÖRKERUD 1969;

JURUKOVA 1969; KERENY und JELLINEK 1972; WOLINSKY 1973; JORIS und MAJNO 1974; PAULI et al. 1975; OUGBOURNE und DUNCAN 1977; GUPTA und SINGH 1978; EITEL et al. 1980; SCHULZ 1980; TRILLO 1981). EITEL et al. (1980) haben die anfänglichen Veränderungen bei der Arteriosklerose in den Arteriae carotae des Kaninchens studiert und kamen zu dem Schluß, daß die Arterienwand auf die verschiedenen Insulte mit einer einförmigen und unspezifischen Reaktion antwortet. Außerdem bemerkten sie, daß eine endotheliale Desquamation nicht unbedingt Vorbedingung für eine Proliferation der glatten Muskelzellen ist. SCHAUB und RAWLINGS (1980) untersuchten elektronenmikroskopisch Gefäße von Hunden nach spontaner und experimenteller Infektion mit *Dirofilaria immitis* und beobachteten Protrusionen an der Gefäßoberfläche. Diese zeigen verschiedene Größen und Formen, sind alle von Endothel überzogen und weisen große Poren auf. Die Autoren machen darauf aufmerksam, daß hämodynamische Faktoren bei der Gefäßantwort eine Rolle spielen können. Die Veränderungen ähneln den initialen Läsionen der Arteriosklerose bezüglich des Vorhandenseins von Bindegewebe und der Reaktion der glatten Muskelzellen.

Der Ausdruck "Ghost bodies" ist von VELTMAN et al. (1975) vorgeschlagen worden. Diese Autoren glauben dabei an eine besondere Form der Degeneration der glatten Muskelzellen.

2.4. Allgemeine Mineralisierungsstörungen

Hypercalcämie und Calcinose bei Florida-Pferden als Folgen einer Caestrum-diurnum-Vergiftung beschreiben KROOK et al. (1975). Bei den betroffenen Tieren treten stark erhöhte Blut-Kalziumwerte auf. Außerdem werden pathomorphologische Veränderungen, wie z.B. eine dystrophische Calcinose des elastischen Gewebes in größeren Arterien, nachgewiesen. Allerdings ist beim Vorliegen einer allgemeinen Osteopetrose ein Zusammenhang zum Hypoparathyreoidismus und Hypercalcitoninismus zu beobachten.

KÜHLER (1981) berichtet über Verkalkungen als Folge von Pflanzenvergiftungen bei Pferden in Österreich; die Veränderungen ähneln der Calcinose der Rinder und betreffen hauptsächlich Aorta und Lunge.

TRILLO (1981) hat bei der experimentellen Primaten-Arteriosklerose beobachtet, daß die Verkalkung charakteristisch ist für einen beginnenden arte-

riellen Schaden, ohne die Vorbedingung einer zellulären Nekrose. Allerdings kann es vielleicht durch den Kalzium-Oberschuß zur Ausbildung sogenannter "Ghost bodies" durch glatte Muskelzellen kommen. In einer Arbeit über die chemische Zusammensetzung normaler und anormaler Blutgefäßwände wird von CARLSTRÖM et al. (1953) die extraskeletale Gewebeerkrankung als eine dystrophisch-metastatische Calcinosis zusammengefaßt. Bei den dystrophischen Verkalkungen beruht die Ausfällung auf lokalen Faktoren im Gewebe. Allgemeine Störungen im Kalkstoffwechsel brauchen nicht vorzuliegen, sie treten im degenerierten, insbesondere hyalinisierten nekrotischen Gewebe auf. Metastatische Verkalkungen entstehen im Anschluß an erhöhte Kalziumwerte im Blut. Nach ABRAHAM (1979) sind der Benutzung des Rasterelektronenmikroskopes (REM) und der Röntgenstrahlen-Mikroanalyse (EDXA) bei Diagnosestellung gewisse Grenzen gesetzt. Seiner Meinung nach ist die Sensibilität zum Leichtmetall- oder Spurenelementnachweis nicht ausreichend und deshalb für die Massenanalyse ungeeignet. Diese Technik kann beim Vorliegen von Einzelpartikeln zur Analyse verschiedener Elemente Verwendung finden. BARROS et al. (1981) untersuchen mittels Röntgen-Mikroanalyse die Aortenwand von Kaninchen nach Solanum malacoxyton-Vergiftung, wobei sehr hohe Kalziumwerte nachzuweisen sind.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methode

Tiermaterial

Es handelt sich um 51 Pferde verschiedenen Alters und verschiedener Rasse beiderlei Geschlechts, die im Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover routinemäßig seziiert und pathologisch-anatomisch untersucht worden sind. Bei drei Fällen wurde sofort nach der Euthanasie eine Darmresektion vorgenommen und nach einer Durchspülung des Gefäßsystems mit physiol. Kochsalzlösung eine Perfusionsfixierung des Darmtraktes mit 5 %igem Glutaraldehyd über die Arteria mesenterica cran. durchgeführt.

Für die Lupenuntersuchung wurden Teile des perfundierten Ileum mit Anteilen an Mesenterialgefäßen (20 x 20 cm) entnommen und eine warme 5 %ige Agar-Lösung zur Dilatation der Arterien injiziert. Nach einer 24-stündigen Fixierung in 10 %igem neutralen Formalin wurden 0,5 - 1,0 cm große Stücke zugeschnitten, mit einer Rasierklinge nochmals sagittal geteilt und in Aqua dest. auf dem Magnetrührer bei ca. 70° C etwa 3 - 5 Minuten bewegt, um die Agar-Lösung auszuspülen.

Anschließend erfolgte die Färbung mit Alizarin Rot nach SMITH und BRUTON (1979). Die Fotos wurden mit einem Stereomikroskop der Firma Leitz angefertigt.

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen umfassen Proben aus verschiedenen Organen. Sie wurden in 10 %igem neutralem Formalin fixiert und in Paraplast eingebettet. Bei den auf einem Schlittenmikrotom (Firma Jung) hergestellten ca. 2 µm dicken Schnitten erfolgte in allen Fällen eine Hämalaun-Eosin-Färbung.

In insgesamt 20 Fällen (männliche und weibliche Tiere; Alter von einem Tag bis 17 Jahren) wurden außerdem folgende Färbungen bzw. Reaktionen durchgeführt:

Alcian Blau	Gomori
Kossa	(ROMEIS 1968, BURCK 1981)
PAS	
Berliner Blau	
Turnbull	
Feulgen	

Weiterhin erfolgte in 8 Fällen eine Entkalkung mit Ossafixona (Trichlor-Essigsäure - Firma Röhm Pharma GmbH).

Die danach hergestellten Paraffinschnitte wurden ebenfalls den oben beschriebenen Färbungen unterzogen.

Die Fotos wurden mit einem Fotomikroskop der Fa. Carl Zeiss hergestellt.

Für die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden sofort nach der Perfusionsfixierung kleine Gewebstücke des Darmes entnommen. Im Anschluß an eine drei- bis viertägige Nachfixierung in 5 %igem Glutaraldehyd erfolgte die weitere Präparation der Proben (Anschnitt im Winkel von ca. 45°), um die Gefäße sowohl im Längs-, als auch im Querschnitt betrachten zu können. Die Blockoberfläche wurde mit Cacodylatpuffer scharf abgespült. Eine weitere Spülung in Cacodylatpuffer über vier Stunden schloß sich an. Danach begann die Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (30 % - 50 % - 70 % bei zweimaligem Wechsel des absoluten Alkohols). Das Material wurde sodann zwei Tage in Essigsäureamylester verbracht und anschließend unter Anwendung des Critical-Point-Verfahrens mit Kohlendioxyd getrocknet. Nachdem die Proben mittels Leitsilber auf Träger geklebt worden waren, erfolgte eine Goldsputterung (BAE 120, Fa. Balzers, Liechtenstein; 2 - 3 mA; Probenabstand 2,5 cm ca. 4 Minuten). Die Auswertung und photographische Dokumentation wurde mit einem JEOL-JSM-35 C-Scanning Mikroskop bei 20 - 25 KV Beschleunigungsspannung vorgenommen, wobei die Grundvergrößerung zwischen 800 - 10.000 fach lag.

Die transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte nach der Perfusionsfixierung kleiner Gewebestückchen (ca. 1 mm^3) aus der Darmwand (Ileum, Caecum und Colon) sowie von den kleinen Mesenterialgefäßen (5 %iges Glutaraldehyd für 24 Stunden). Anschließend wurden die Proben mehrmals in Cacodylatpuffer (pH 7,2) gespült, zwei Stunden in 1 %igem Osmiumtetroxyd nachfixiert, wieder in Cacodylatpuffer gespült und mit Hilfe einer aufsteigenden Alkoholreihe (30 % - 50 % - 70 % - 90 % und 100 %) dehydriert. Danach kamen sie 30 bis 60 Minuten in Propylenoxyd als Intermedium sowie 60 Minuten in ein Propylenoxyd-Epon 812 Gemisch. Die Einbettung in ein Epon 812 Gemisch schloß sich an. Die Polymerisation erfolgte je einen Tag bei 35° C und 45° C und drei Tage bei 60° C .

Nach dem Zutrimmen sind von diesen Blöcken Semidünnschnitte (0,6 μm) mit einem Reichert-Ultramikrotom Mod. Om U2 angefertigt und anschließend mit Toluidinblau gefärbt worden. An ausgewählten Blöcken wurden mit einem Reichert-Ultramikrotom (Mod. Om U3) ca. 70 nm dicke Ultra-dünnschnitte hergestellt. Der letzte Präparationsschritt war die Kontrastierung der auf Trägernetze (200 mesh, 3,2 mm \emptyset) verbrachten Schnitte, 20 Minuten mit Uranylacetat und 10 Minuten mit Bleicitrat (REYNOLDS 1963).

Die elektronenmikroskopische Auswertung und die Photoaufnahmen erfolgten mit einem Zeiss-EM 10 bei 2000 bis 4000 facher Vergrößerung.

Energiedispersive Röntgenmikroanalyse (EDXA)

Die Gewebeproben wurden dem Darmtrakt entnommen, wie schon beschrieben fixiert, in Epon 812 eingebettet und geschnitten. Semidünnschnitte (0,5 - 1,0 μm) wurden auf einem Objektträgernetz aus Kupfer unkontrastiert im ETEC Autoscan Rasterelektronenmikroskop mit Zusatz für Transmissionselektronenmikroskopie (STEM) untersucht.

Photographische Aufnahmen wurden mit einer Lindhof Polaroid Sofortbildkamera angefertigt.

Energiedispersive Röntgenmikroanalysen (Silizium-Halbleiterdetektor, KEVEX Mod. 2003) gelangten an folgenden Stellen auf dem unbedampften Semidünnschnitt zur Auswertung:

- a) außerhalb des Gewebes (= Epon)
- b) in der Wand des Gefäßes ohne deutlich erkennbare asteroide Körperchen
- c) im Zentrum eines eindeutig identifizierten asteroiden Körperchens.

Bei den Analysen wurde der Elektronenstrahl auf einer Fläche kleiner als 1 μm^2 fokussiert.

Folgende Bedingungen bestanden bei den Analysen: Die Beschleunigungsspannung betrug 12,5 KV, der Strahlstrom 175 μA und der Probestrom etwa 2×10^{-9} A. Der Arbeitsabstand war 17 mm und der Detektorabstand 35 mm.

Zur lichtmikroskopischen Untersuchung kamen vom gleichen Block zusätzlich drei Schnitte zur Auswertung, auf Glasobjektträger aufgetragen und anschließend für ca. 2 min mit Toluidinblau gefärbt.

3.2. Ergebnisse

Allgemeine Voruntersuchung im Rahmen der makroskopischen Diagnostik

Die bei der vorliegenden Arbeit verwendeten 51 Pferde wurden mit unterschiedlichen Vorberichten zur Sektion eingeliefert; 21 von ihnen waren im Verlauf einer Kolik gestorben.

Bei den zur parasitologischen Untersuchung eingesandten Proben wurden in den meisten Fällen Strongyliden-Eier nachgewiesen.

Bei der pathologisch-anatomischen Befunderhebung waren Alterationen unterschiedlicher Art und Lokalisation festzustellen, wobei im Bereich des Magen-Darm-Traktes hämorrhagische Prozesse und entzündliche Veränderungen besonders häufig vorlagen.

Die mittels Lupenuntersuchung zum Nachweis asteroider Körperchen gemusterten Proben zeigen fast regelmäßig verstreute, noduläre Gebilde von nahezu einheitlicher Größe, die geringgradig in das Gefäßlumen hineinragen. Bei erwachsenen Pferden ist die Besiedelung des Endothels dichter als bei jungen Tieren. Die Anfärbbarkeit der asteroiden Verkalkungen durch Alizarin-Rot deutet auf das Vorhandensein von Kalziumsalzen hin (Abb. 1 A - 1 B). Bei dieser Methode sind eventuell vorhandene Endothel-läsionen nicht einwandfrei zu erkennen.

Die lichtmikroskopisch beobachtete Verteilung der asteroiden Gebilde in der Intima der Arterien im Zusammenhang mit dem Alter der untersuchten Tiere ist in Abb. 2 und Tabelle I dargestellt. Die Arterienverkalkungen werden bei Pferden ab der 4. Lebenswoche beobachtet. Wie aus der Tabelle I hervorgeht, ist bei den 4 Wochen alten Tieren allerdings noch keine positive Kalzium-Reaktion festzustellen, wohl aber lassen sich Mukopolysaccharide mittels PAS-Reaktion nachweisen.

Der Befall der Arterien in den verschiedenen Organen, durch Auszählen in den HE-gefärbten Paraffinschnitten ermittelt, ist in Abb. 3 zusammengefaßt.

Die lichtmikroskopisch festgestellten histochemischen Eigenschaften der untersuchten Körperchen werden in Tab. I wiedergegeben. Die Abbildungen 4 und 5 zeigen zusammenfassend die Morphologie der Verkalkungen sowie die durch diese verursachten Veränderungen der verschiedenen Arterien-schichten.

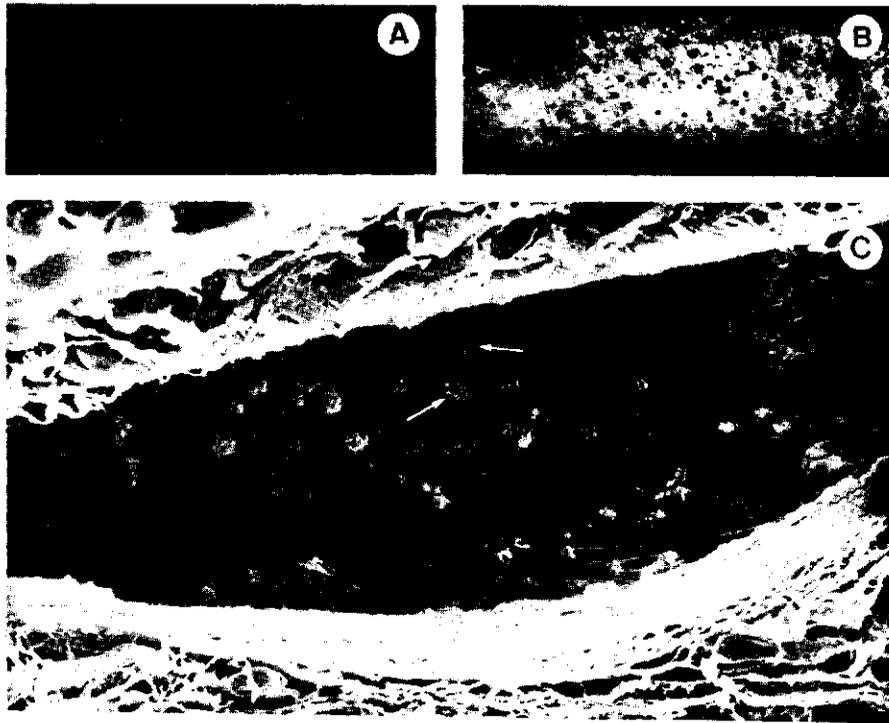


Abb. 1: Übersichtsaufnahmen kleiner Arterien des Darmtraktes mit asteroiden Körperchen

- A - Lupenuntersuchung, Pferd, 3 Monate, Alizarin-Rot-Färbung, Vergr. 105 x Herdförmiges Auftreten.
- B - Lupenuntersuchung, Pferd, 6 Jahre, Alizarin-Rot-Färbung, Vergr. 105 x Diffuse Verteilung zahlreicher Körperchen.
- C - Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung, Pferd, 6 Jahre, Vergr. 400 x Diffuse Verteilung zahlreicher Körperchen mit deutlich erkennbarer glatter und rauher Oberfläche (→).

Tabelle I. Gefäßprozesse sowie Färbeverhalten asteroider Körperchen bei verschiedenen Altersgruppen

Alter der Tiere (Tage)	Anzahl der Tiere (N)	Typische Gefäßveränderungen (HE-Färbung)	Färbungen			
			HE	KOSSA	PAS	ALC.B.
Foetus	5	o.b.B.	-	-	-	-
1 - 30	7	Intima-Ödem + Media-Ödem + Media-Hyperpl. +	-	-	+	-
31 - 60	3	Intima-Ödem + Media-Ödem + Media-Hyperpl. +	+	-	++	-
61 - 90	2	Intima-Ödem +++ Intima-Verdick. + Media-Ödem ++	++	+	+++	++
ab 91	34	Intima-Ödem ++ Intima-Verdick. +++ Media-Ödem ++ Media-Hyperpl. +++ Endoth.Schäd. +	+++	+++	+++	+++

- = negativ; + = geringgradig positiv; ++ = mittelgradig positiv; +++ = hochgradig positiv;

Anzahl der Tiere

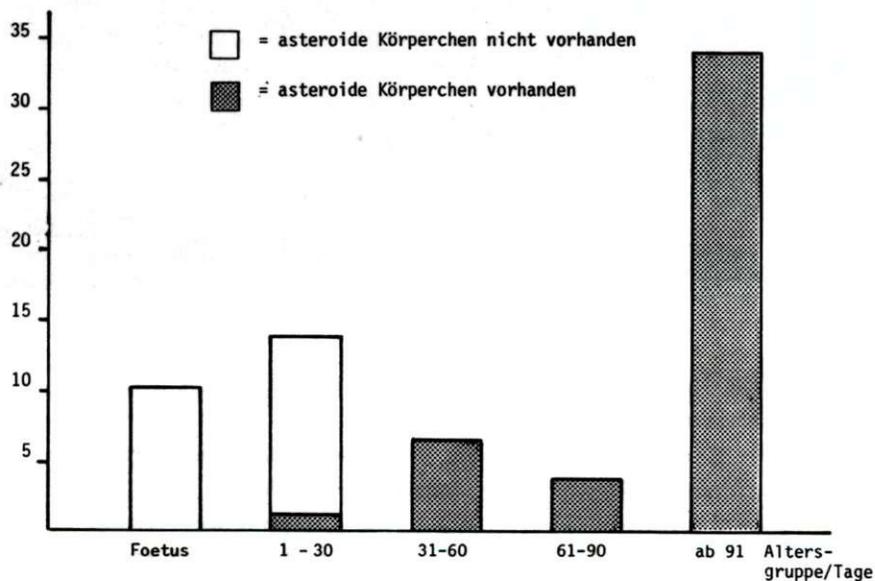


Abb. 2: Vorkommen asteroider Körperchen bei verschiedenen Altersgruppen

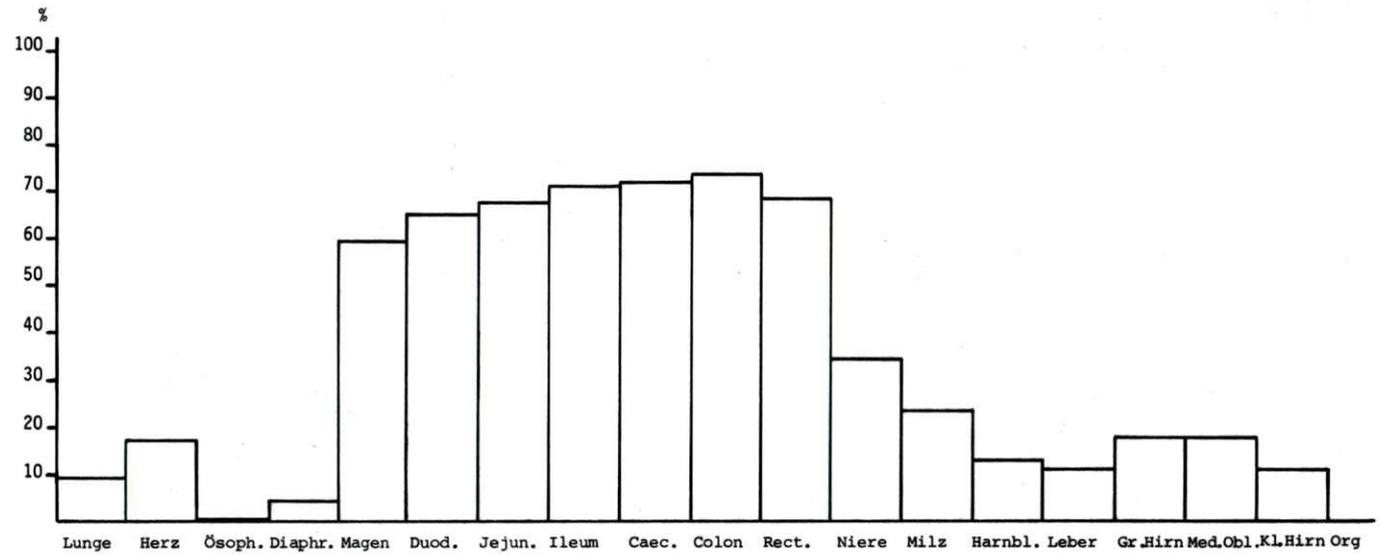


Abb. 3: Auftreten asteroider Körperchen in verschiedenen Organen (%)

Aus der Abbildung 2 geht hervor, daß bei Feten weder asteroide Körperchen noch andere hiermit zusammenhängende Läsionen beobachtet werden können. Bei Tieren bis zum Alter von einem Monat treten lediglich ein geringgradiges Ödem der Intima und manchmal der Media wie auch Zeichen beginnender Hyperplasie der Muskularis auf. Bei den Tieren dieser Altersgruppe sind durch die angewandten Färbungen (HE, Alcian Blau, Kossa sowie PAS-Reaktion) keine asteroiden Körperchen nachzuweisen (Tab. I). Alle Tiere im Alter zwischen 31 und 60 Tagen zeigen in der Arterienintima Strukturen, die den asteroiden Körperchen ähneln. In einigen Fällen können sie nur nach der PAS-Reaktion festgestellt werden. Ödematisierung und Hyperplasie der Media sowie das Ödem der Intima sind bei den Pferden dieser Gruppe deutlicher ausgebildet. In der Adventitia erkennt man in einigen Fällen Proliferationsanzeichen. Die Form der Körperchen zeigt keine markanten Abweichungen verglichen mit denen in der ersten Gruppe.

Sämtliche Tiere der Altersgruppe von 2 - 3 Monaten haben asteroide Körperchen in der Arterienintima, die schon eine gewisse äußere Vielfalt erkennen lassen und geringe Tendenz zur Vorwölbung ins Gefäßlumen zeigen (Abb. 4 B). Dazu kommt ein deutlicher als zuvor beobachtetes Ödem von Intima und Media sowie eine Hyperplasie der Media.

Die Diagnose ist besonders dann eindeutig, wenn außer der HE-Färbung eine PAS-Reaktion durchgeführt wird. An der Peripherie der Gebilde färbt sich das Material bisweilen Alcian-Blau-positiv, und einige Körperchen zeigen auch eine positive Kalkreaktion (von Kossa).

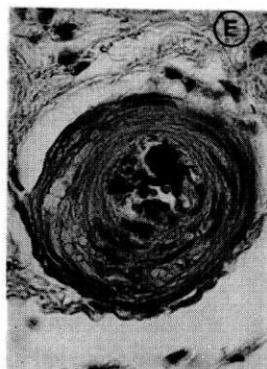
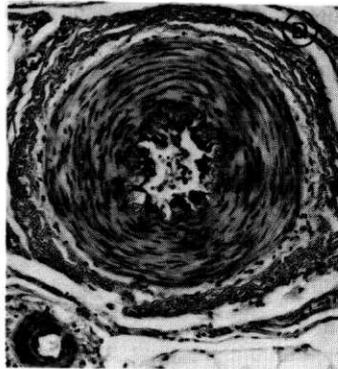
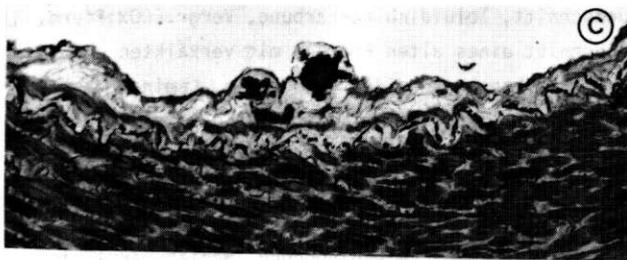
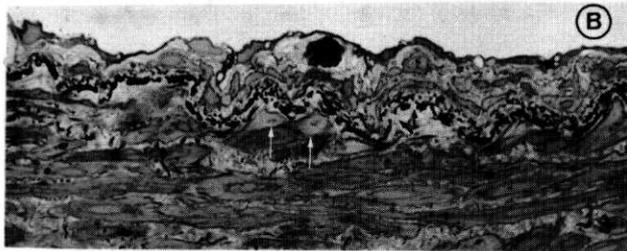
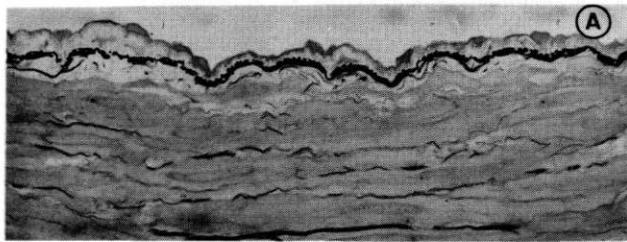
Alle Tiere mit einem Lebensalter von mehr als drei Monaten sind in einer Gruppe zusammengefaßt, zumal bei der Gesamtheit dieser Tiere relativ einheitliche asteroide Gefäßverkalkungen auftreten.

Hier zeigen sich kaum noch Unterschiede bezüglich der morphologischen bzw. färberischen Eigenschaften der Körperchen. Die Sternform, die namensgebend für die Veränderung war, ist gut zu erkennen (Abb. 4 C).

Das Ödem der Media und der Intima sowie die Hyperplasie der Media sind stärker ausgeprägt. Auch sieht man Verdickung und Schädigung des Endothels sowie häufig eine Pseudostenose des Gefäßlumens (Abb. 4 D - E). Die Diagnose anhand HE-gefärbter Paraffinschnitte bereitet keine Schwierigkeit. Die PAS-Reaktion und die Alcian-Blau-Färbung sind stärker positiv

Abb. 4: Lichtmikroskopische Darstellung asteroider Körperchen

- A - Gefäßabschnitt ohne Veränderung. Semidünnschnitt, Toluidinblau-Färbung, Vergr. 600 x; Pferd, 3 Monate.
- B - Gefäßabschnitt beim jungen Pferd mit asteroiden Körperchen, Intimaverdickung, Aufsplitterung der Lamina elastica interna und beginnende Transformation glatter Muskelzellen (→). Semidünnschnitt, Toluidinblau-Färbung, Vergr.600x;Pferd, 3 Monate.
- C - Gefäßabschnitt eines alten Pferdes mit verkalkten und ins Lumen vorgewölbten asteroiden Körperchen, Lamina elastica interna teilweise segmentiert, einzelne glatte Muskelzellen im subendothelialen Raum, geringgradiges Intimaödem. Semidünnschnitt, Toluidinblau-Färbung, Vergr. 600x; Pferd, 6 Jahre.
- D - Gefäßabschnitt mit mehreren girlandenförmig angeordneten asteroiden Körperchen, Lumeneinengung, Mediahyperplasie und Adventitiaproliferation. Kossa-Färbung, Vergr.250x;Pferd,17 Jahre.
- E - Gefäßabschnitt mit asteroiden Körperchen und fast totaler Obturation des Lumens, Hyperplasie und hochgradiger Ödematisierung der Media. Kossa-Färbung, Vergr.600x; Pferd, 17 Jahre.

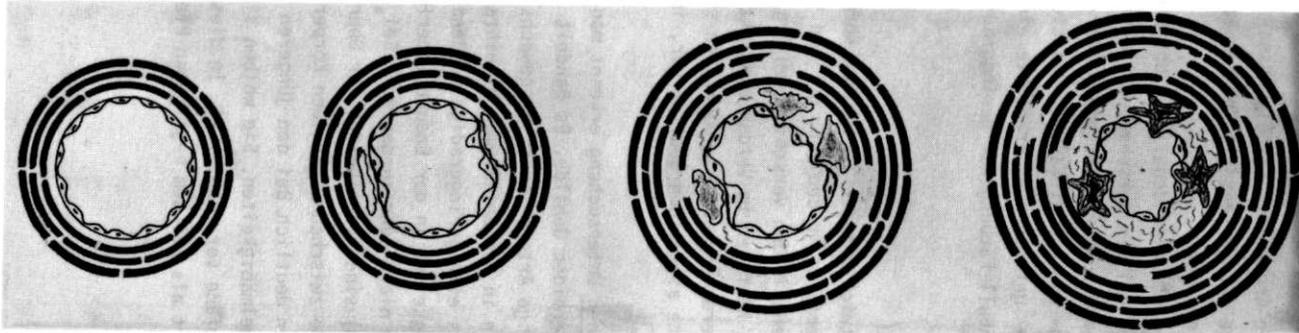


als bei den Tieren der vorangegangenen Gruppe, und mittels Kossa-Färbung lassen sich stets Kalziumsalze nachweisen. Als Kalzium-Verbindungen kommen Phosphate und Sulfate in Frage.

Durch Anwendung der Lichtmikroskopie sind keine deutlichen Unterschiede in der Größe der asteroiden Körperchen bei den verschiedenen Altersgruppen festzustellen. In allen Fällen der vierten Gruppe (älter als 3 Monate) verliefen die Berliner Blau- und Gomori-Färbung negativ. Bei der Feulgen-Reaktion zeigten alle untersuchten Präparate eine eindeutig positive Reaktion. Die Turnbull-Färbung war geringgradig positiv.

Eine schematische Darstellung der Entwicklung der asteroiden Körperchen mit den dazugehörigen Veränderungen erfolgt in den Abb. 5.1 und 5.2. Hinsichtlich des numerischen Vorkommens in den verschiedenen Organen ist festzustellen, daß die Körperchen weit häufiger im Verdauungstrakt, insbesondere im Caecum und Colon, als in anderen Organen zu beobachten sind. In den Gefäßen des Ösophagus kommen keine asteroiden Gebilde vor, im Diaphragma nur sehr selten (Abb. 3).

Bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung erkennt man besser die fast regelmäßige Verteilung der asteroiden Gebilde. Es handelt sich bei der Abb. 1 C um eine kleinkalibrige Arterie eines ausgewachsenen Pferdes, bei dem die Körperchen schon in das Gefäßlumen hineinragen. In dieser Vergrößerung fallen bereits eine geringgradige Größendifferenz und Formenvielfalt sowie Unregelmäßigkeiten an der Endotheloberfläche auf. Die Endothelschädigung ist hier nicht sehr ausgeprägt. Bei stärkerer Vergrößerung (8000 x; Abb. 7 B) sind Einzelheiten der Oberflächen zu erkennen, und die Unterschiede zwischen asteroiden Körperchen von älteren und jungen Pferden werden deutlich. Bei den jüngeren Tieren zeigt die Oberfläche geringere Unregelmäßigkeiten. Sie wölben sich wie kleine Sanddünen in das Lumen der Gefäße vor (Abb. 7 A). In diesem Fall schien das Endothel weniger verändert als bei dem 6-jährigen Pferd (Abb. 7 B - 8 A).



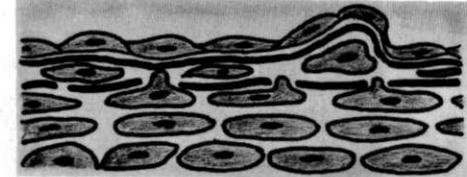
Aster. Kpch.	-	Aster. Kpch.	+	Aster. Kpch.	++	Aster. Kpch.	+++
Intima-Ödem	-	Intima-Ödem	+	Intima-Ödem	+++	Intima-Ödem	+
Intima-Verdick.	-	Intima-Verdick.	-	Intima-Verdick.	+	Intima-Verdick.	+++
Media-Ödem	-	Media-Ödem	+	Media-Ödem	++	Media-Ödem	++
Media-Hyperpl.	-	Media-Hyperpl.	+	Media-Hyperpl.	++	Media-Hyperpl.	+++
		Endoth.-Schäd.	-	Endoth.-Schäd.	-	Endoth.-Schäd.	+
		Verkalkung	-	Verkalkung	+	Verkalkung	+++

Abb. 5.1. Schematische Darstellung der Entwicklung asteroider Körperchen am Gefäßquerschnitt.

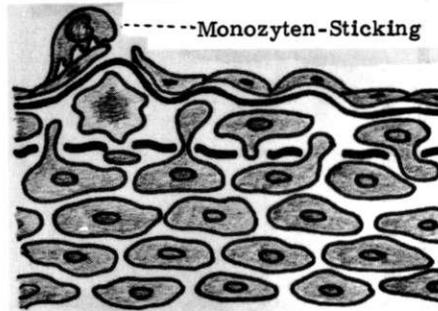
A Normale Gefäßwand



B Beginnende Aktivierung der glatten Muskelzellen

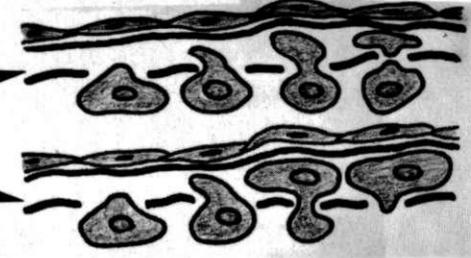


C Protrusion von glatten Muskelzellen durch die Lamina elastica interna sowie Intimaödem



D 2 Wege der Prädisposition einer Verkalkung von glatten Muskelzellen

Zytoplasmatische
Abschnürung
oder
Protrusionen
ganzer Zellen



E Endstadium des asteroiden Körperchens

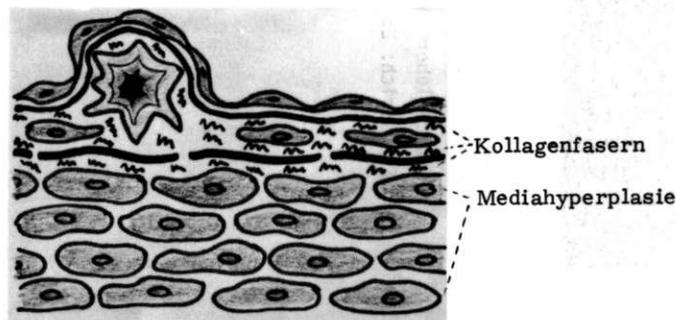


Abb. 5.2: Schematische Darstellung der Verkalkungswege der asteroiden Körperchen.

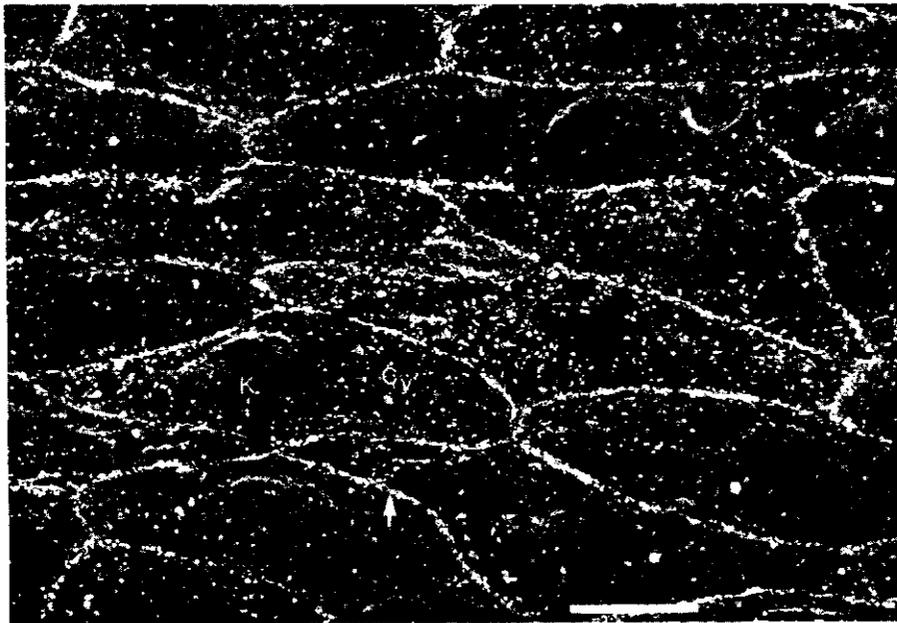


Abb. 6:

Rasterelektronenmikroskopische Darstellung einer unveränderten Endotheloberfläche. K = Kern, Cy = Cytoplasma, \rightarrow = Zellgrenze. Eichstrich: 25 μ m. Drei Monate altes Pferd.

Nach natürlicher oder gewaltsamer Ablösung hinterlassen die verkalkten Körperchen kraterähnliche Läsionen, die bis zur Basalmembran hinreichen (Abb. 7 A). Die Größe der asteroiden Körperchen beträgt 5 bis 30 μm .

Häufig werden "Sticking-cells" an der Peripherie der asteroiden Körperchen beobachtet (Abb. 14 A).

Im Falle des ausgewachsenen Pferdes sind die untersuchten Körperchen größer als bei den jungen Tieren. Die Oberfläche ist rau und die Form unregelmäßig amöboid, mit oft mehrspitzigen Fortsätzen, die als Zeichen einer fortgeschrittenen Verkalkung angesehen werden können (Abb. 8 A-B). Endothelerosionen sind ein häufiger Befund. In diesen Arealen sieht man zuweilen Zellreste und Detritusmaterial (Abb. 8 A).

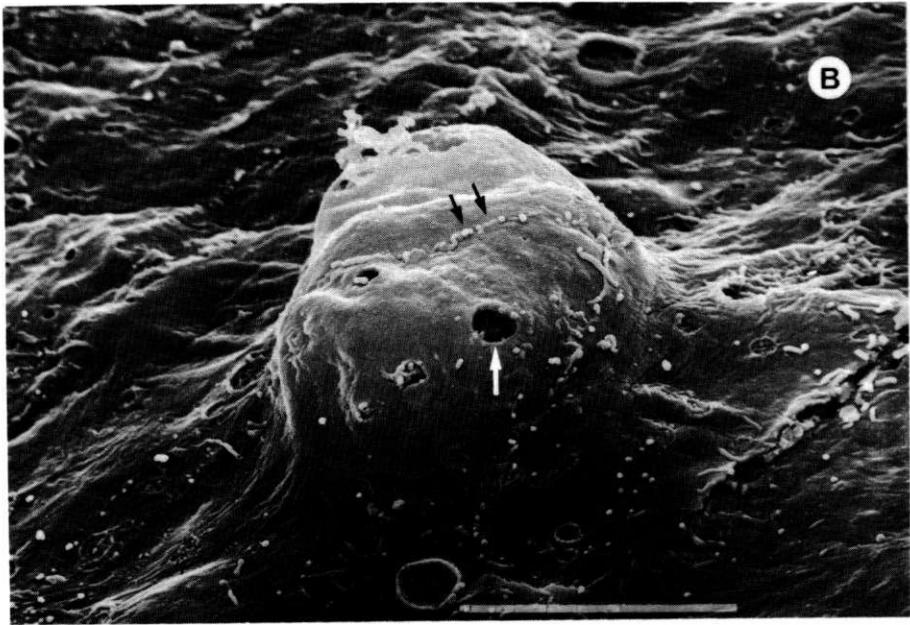
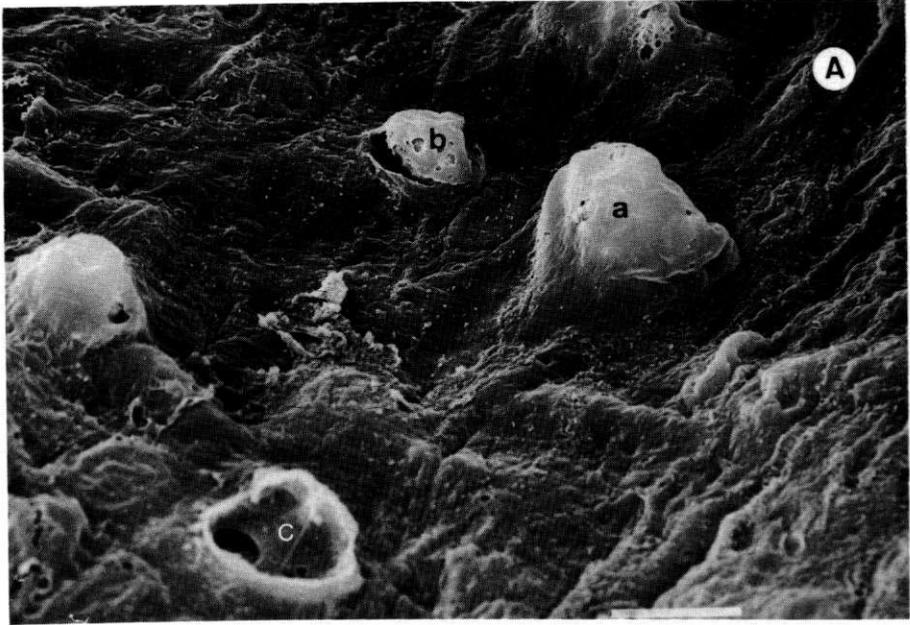
Bei der transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchung sind bei dem drei Monate alten Fohlen ein Ödem an der Peripherie der Körperchen und im Bereich der Muskularis eine Vermehrung der Kollagenfasern sowie eine Fragmentation der "Lamina elastica interna" zu erkennen (Abb. 10-11-12). Außerdem sieht man Makrovesikel im Zytoplasma der Endothelzellen, darüber hinaus monozytäre Zellen, die sich als "Sticking-cells" den Endothelzellen aufgelagert haben (Abb. 14 B-C). Die glatten Muskelzellen im subendothelialen Raum oder im Bereich der Lamina elastica weisen Formveränderungen auf, so daß sie zu bizarren Gebilden werden. Oft sind Kernteilungsfiguren zu beobachten sowie eine geringgradige Proliferation des rauhen Endoplasmatischen Retikulums (E.-R.) und anderer Zellorganellen (Abb. 9 - 10). Manchmal sind Zytoplasma und Zellkern vergrößert. Die bizarren Formen des Zytoplasmas vieler glatter Muskelzellen bzw. ihrer Ausläufer ähneln möglichen Initialstadien asteroider Körperchen.

Häufig kommt es zu Protrusionen des Zytoplasmas glatter Muskelzellen in Richtung der Membrana elastica oder auch in den subendothelialen Raum hinein (Abb. 10 - 11). Bisweilen zeigt sich ein partieller oder totaler Verlust des die Körperchen bedeckenden Endothels (Abb. 11 B - 12), wie schon bei den rasterelektronenmikroskopischen Befunden beschrieben wurde. Die Bezirke sind zum größten Teil mit Körperchen von amöboider Form ausgefüllt. Die Basalmembran des Endothels bleibt jedoch erhalten. Darunter sieht man Zellreste.

Abb. 7:

Rasterelektronenmikroskopische Darstellung asteroider Körperchen bei einem jungen Pferd. Sanddünenartige Vorwölbungen (a), beginnende Ablösung (b), Endothelporen (\longleftrightarrow), Zellgrenze (\rightleftarrows). C = Krater-ähnliche Läsion.

Eichstrich: A = 25 μm ; B = 25 μm . Pferd, 3 Monate.



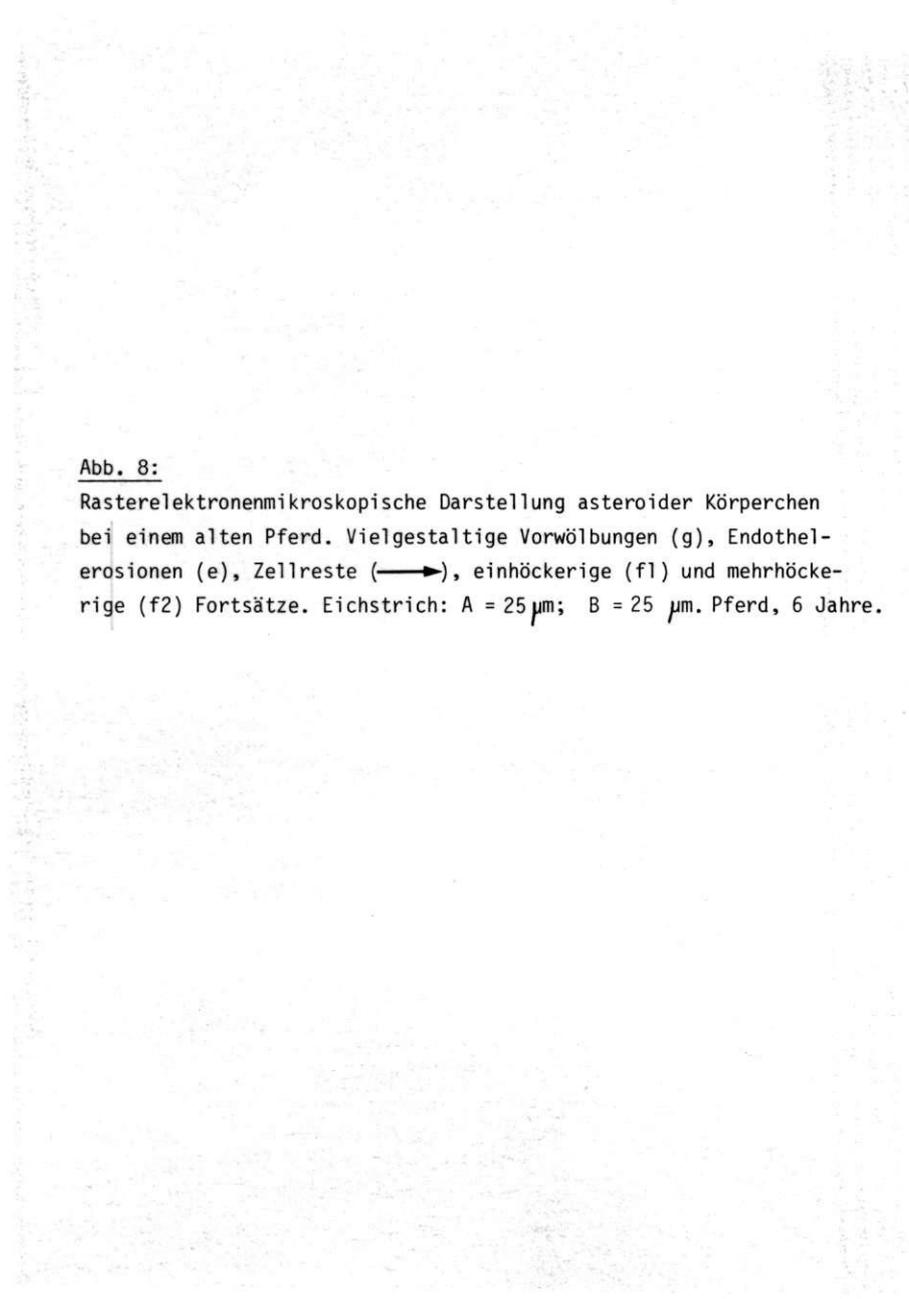


Abb. 8:

Rasterelektronenmikroskopische Darstellung asteroider Körperchen bei einem alten Pferd. Vielgestaltige Vorwölbungen (g), Endothelerosionen (e), Zellreste (→), einhöckerige (f1) und mehrhöckerige (f2) Fortsätze. Eichstrich: A = 25 μm ; B = 25 μm . Pferd, 6 Jahre.

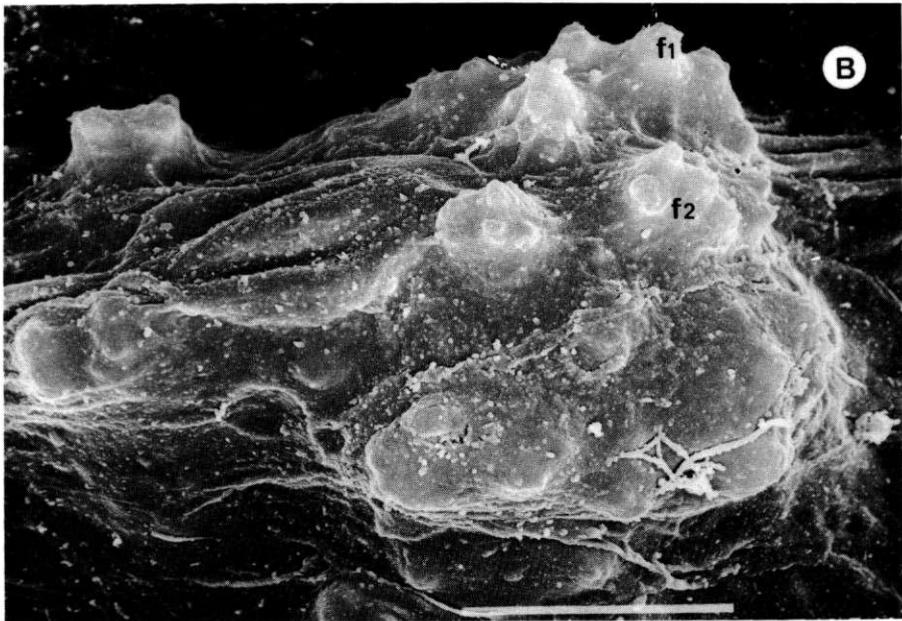
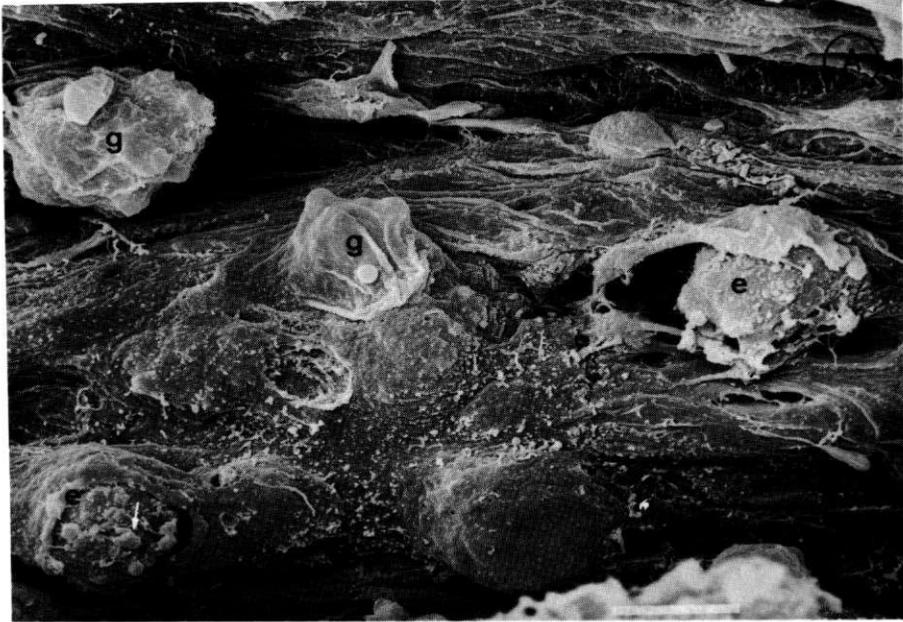


Abb. 9:

Transmissionselektronenmikroskopische Darstellung eines unveränderten Gefäßabschnittes (A), Vergr.: 5500 x, und eines Gefäßes mit beginnender Elastica-Aufsplitterung, Ödematisierung und geringgradiger Aktivierung glatter Muskelzellen (B) bei einem jungen Pferd (3 Monate alt). L = Lumen, E = Endothel, El = Lamina elastica interna, M = glatte Muskelzelle, Er = Rauhes Endoplasmatisches Retikulum.

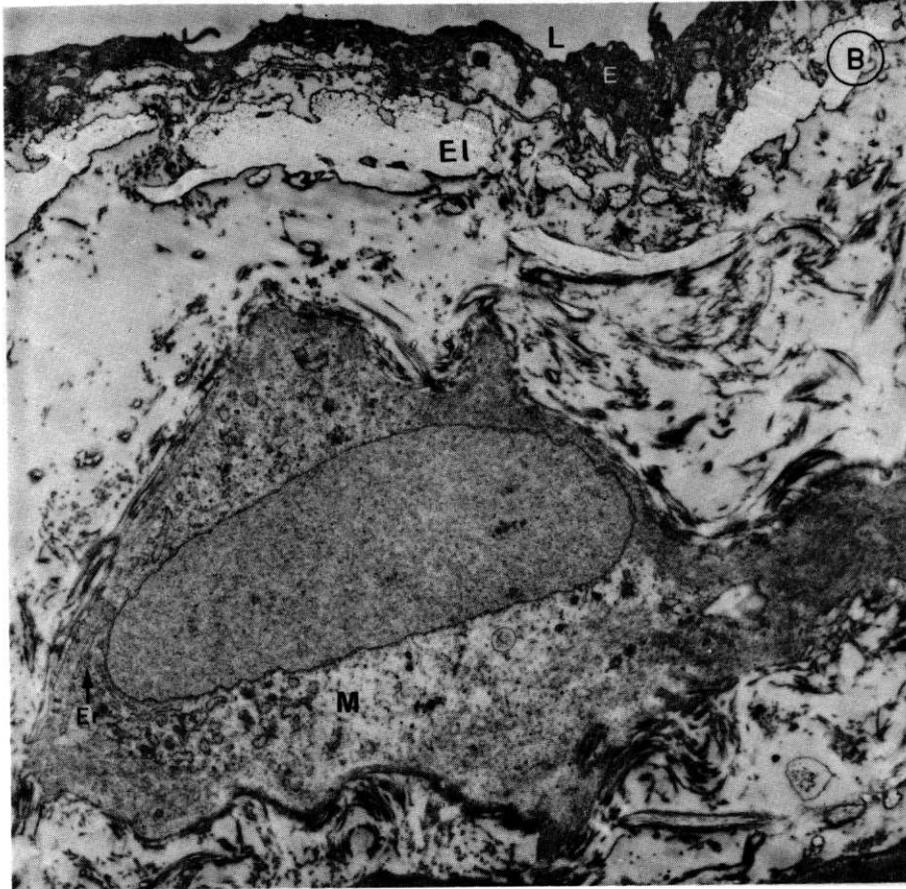
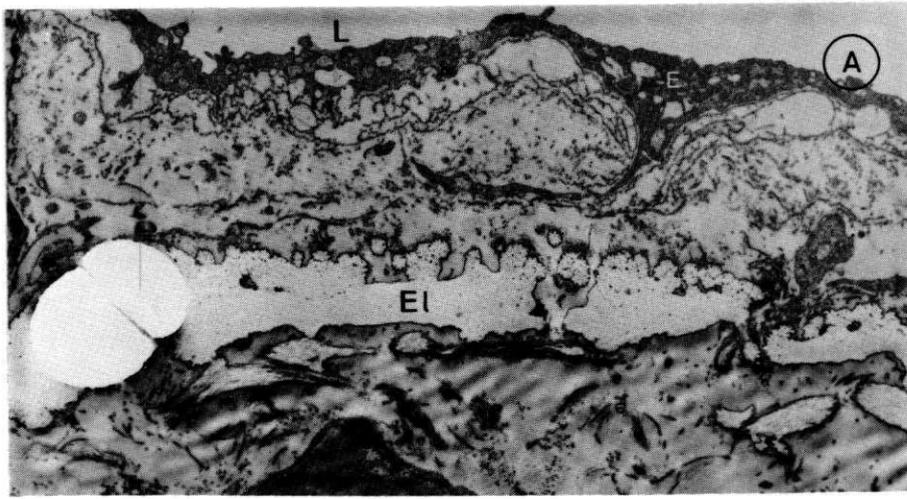


Abb. 10:

Transmissionselektronenmikroskopische Darstellung von aktivierten glatten Muskelzellen (M) mit einzelnen Protrusionen (P1), deutlich sichtbarem Endoplasmatischem Retikulum (Er) und Segmentierungen in den Zellkernen; drei Monate altes Pferd.

L = Lumen, E = Endothel, El = Lamina elastica interna.

Vergr.: A = 4400 x; B = 8800 x.

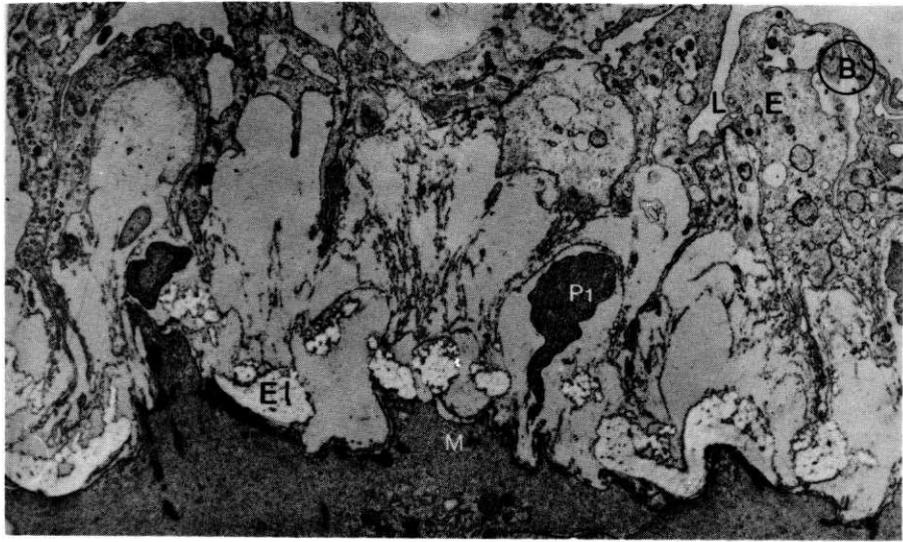
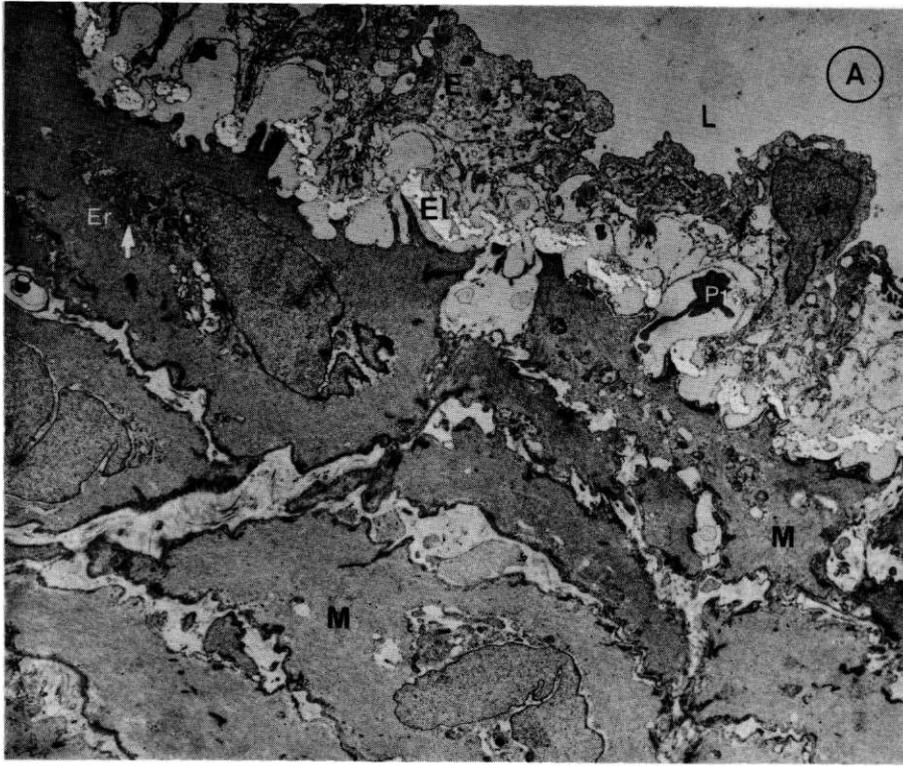
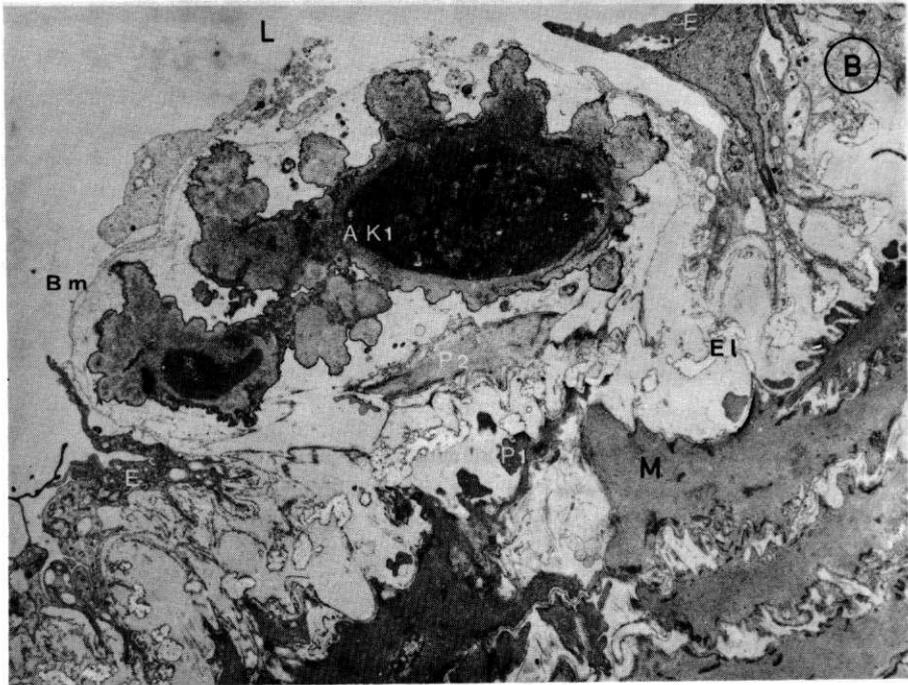
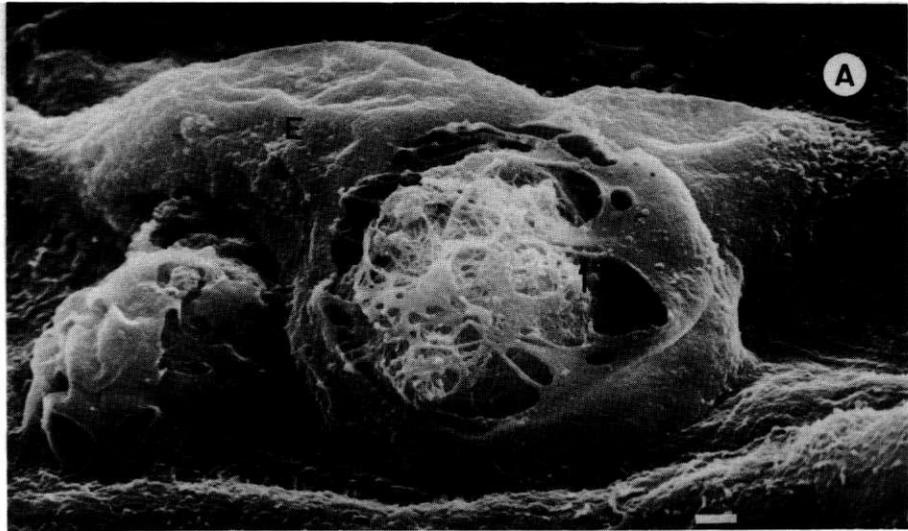


Abb. 11:

Raster- (A) und transmissionselektronenmikroskopische (B) Darstellung eines teilweise endothelbedeckten asteroiden Körperchens beim jungen Pferd (3 Monate). L = Lumen, E = Endothel, Bm = Basalmembran, AK₁ = asteroides Körperchen mit beginnender Verkalkung, El = Lamina elastica interna, P₁ = Protrusion, M = glatte Muskelzelle, \blackrightarrow = Endothelzellbrücken.

Eichstrich: A = 2,5 μ m; Vergr.: B = 4400 x.



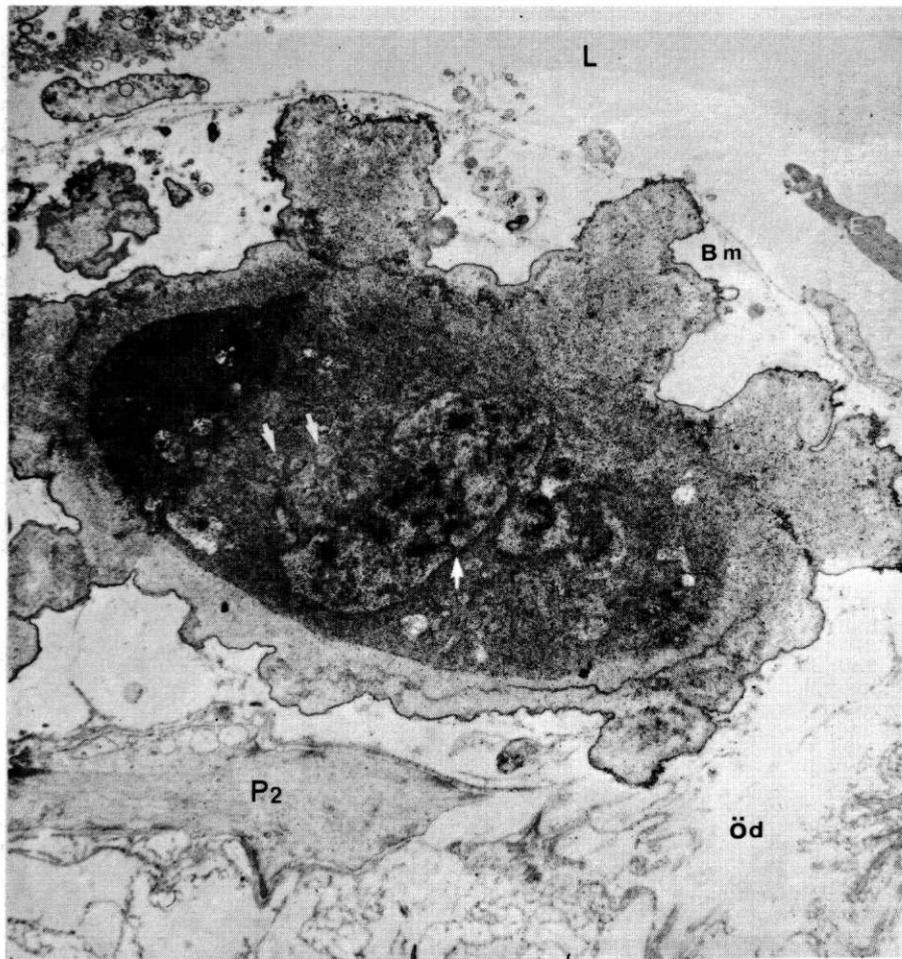


Abb. 12:

Ausschnittvergrößerung von Abbildung 11 B. Deutlich sichtbare Reste von Zellorganellen (→) im Zentrum des Körperchens. L = Lumen, Bm = Basalmembran, P₂ = Protrusion, öd = Ödem. Vergr.: 13.860x.

Myelinfiguren und andere amorphe Gebilde, die als initiale Stadien der asteroiden Körperchen interpretiert werden können (Abb. 15, P₂), sind oft in diesen Arealen nachweisbar.

In den Abb. 12 - 13 stellen sich im Zentrum der Veränderung Strukturen dar, die an Zellkernreste bzw. andere zytoplasmatische Organellen (alle desorganisiert und nekrotisch) erinnern. Der äußere Rand zeigt eine membranartige Kondensation, was sehr wahrscheinlich als Indiz der beginnenden Sekundärverkalkung zu werten ist. Auch hier ist die fragmentierte Lamina elastica und die Proliferation der glatten Muskelzellen im subintimalen Raum zu erkennen (Abb. 10-11-12). In den tieferen Schichten der glatten Muskulatur befinden sich nicht aktivierte Zellen. In Abbildung 15 sieht man die quergeschnittenen Ausläufer von asteroiden Verkalkungen in fortgeschrittenen Stadien (AK₁). Bei dem erwachsenen, perfusionsfixierten Pferd ist im Bereich der ödematisierten Areale eine Intima-Verdickung zu erkennen, die von einer Vermehrung der Kollagenfasern begleitet ist. Hier wird eine geringere Aktivierung der glatten Muskelzellen beobachtet sowie die Tendenz zur Wiederherstellung elastischer Fasern. Die Oberfläche der sich im subendothelialen Raum befindlichen Muskelzellen ist nicht mehr so bizarr (Abb. 15, 16 und 17).

Im Fall der verkalkten asteroiden Körperchen sind Reste von Zellorganellen oder Zellkernen sowie Membranbestandteile nicht mehr zu sehen. Konstant tritt jedoch die Schichtung in mehr oder weniger dichte, konzentrische Bezirke auf. Der Sterncharakter ist hier deutlich erkennbar, weniger amöboide Formen. In Abhängigkeit vom Anschnitt zeigt sich der zentrale Bereich heller oder dunkler.

Energiedispersive Röntgenmikroanalyse (EDXA - Energy dispersive X-ray analysis)

Röntgenmikroanalysen der "asteroiden Körperchen" an Semidünnschnitten zeigen, daß diese Strukturen hauptsächlich Phosphor und Kalzium enthalten. Bei dem Vergleich der Röntgenspektren "asteroider Gebilde" adulter Tiere mit denen der Jungtiere kann ein höherer Kalziumgehalt in den Körperchen adulter Tiere festgestellt werden (Abb. 18). Auch der Phosphorgehalt ist in den Körperchen erwachsener Tiere deutlich höher. Bei vergleichenden Messungen in der benachbarten Arterienwand sind nur

Abb. 13:

Transmissionselektronenmikroskopische Darstellung von asteroiden Körperchen beim jungen Pferd mit feinem Endothelüberzug, zentral Membranbestandteile (→) und Reste von Zellorganellen (→). B ist ein Ausschnitt von A. L = Lumen, E = Endothel, Öd = Ödem, AK₁ = asteroides Körperchen mit beginnender Verkalkung.

Vergr.: A = 4400 x und B = 13.860 x, drei Monate altes Pferd.

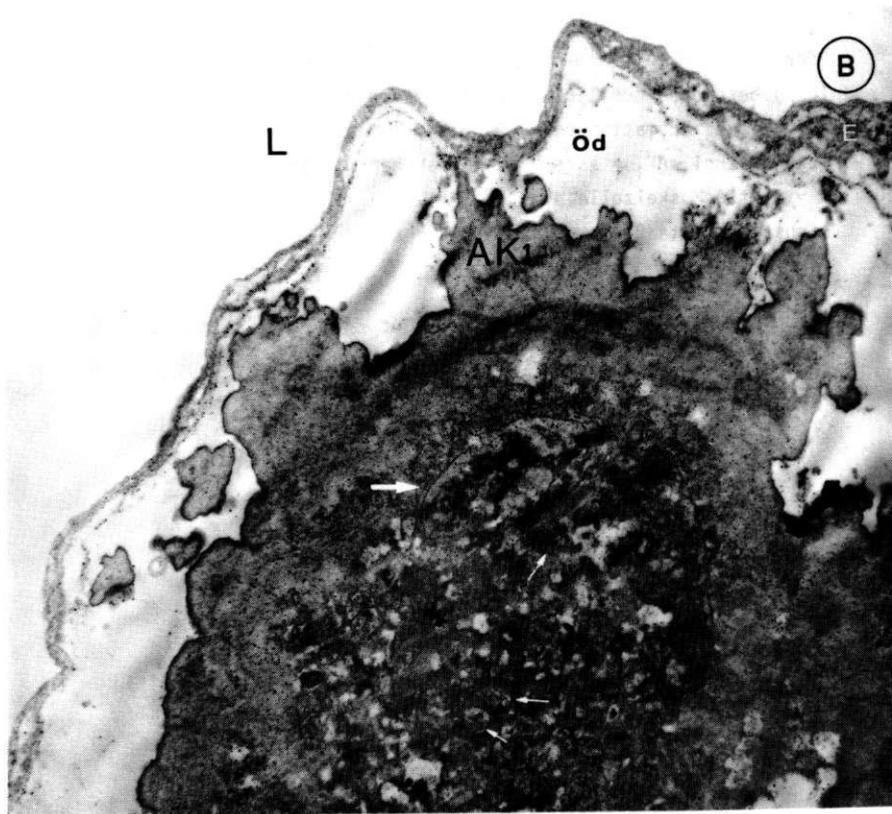
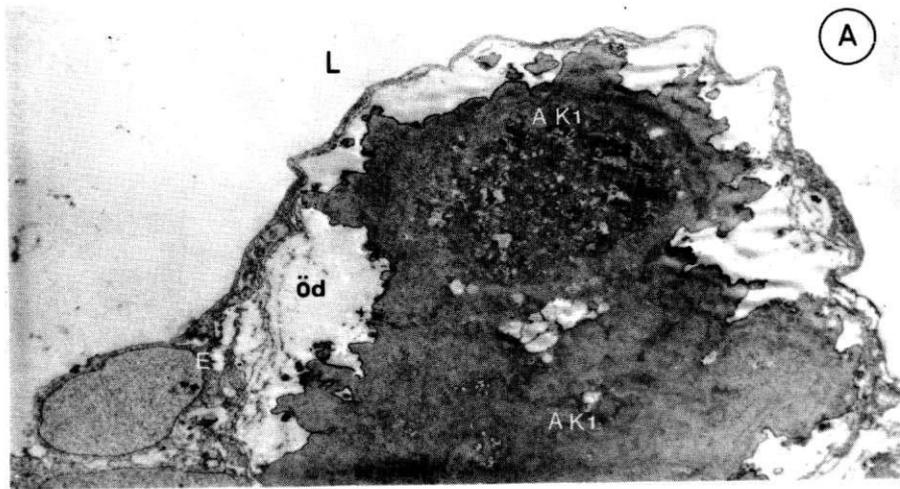


Abb. 14:

Sticking-Cells am Endothel. A) rasterelektronenmikroskopisch,
B) transmissionselektronenmikroskopisch, C) lichtmikroskopisch,
Semidünnschnitt, Toluidinblau-Färbung (Vergr. 600 x), 3 Monate altes
Pferd.

In B) besonders deutlich sichtbare Makrovesikel in der Endothelzelle
(\longrightarrow) und Ödematisierung (Öd). L = Lumen, Mo = monozytäre Zellen,
E = Endothel, AK₁ = asteroide Körperchen mit beginnender Verkalkung,
M = glatte Muskelzelle.

Eichstrich: A = 2,5 μ m; Vergr.: 4400 x.

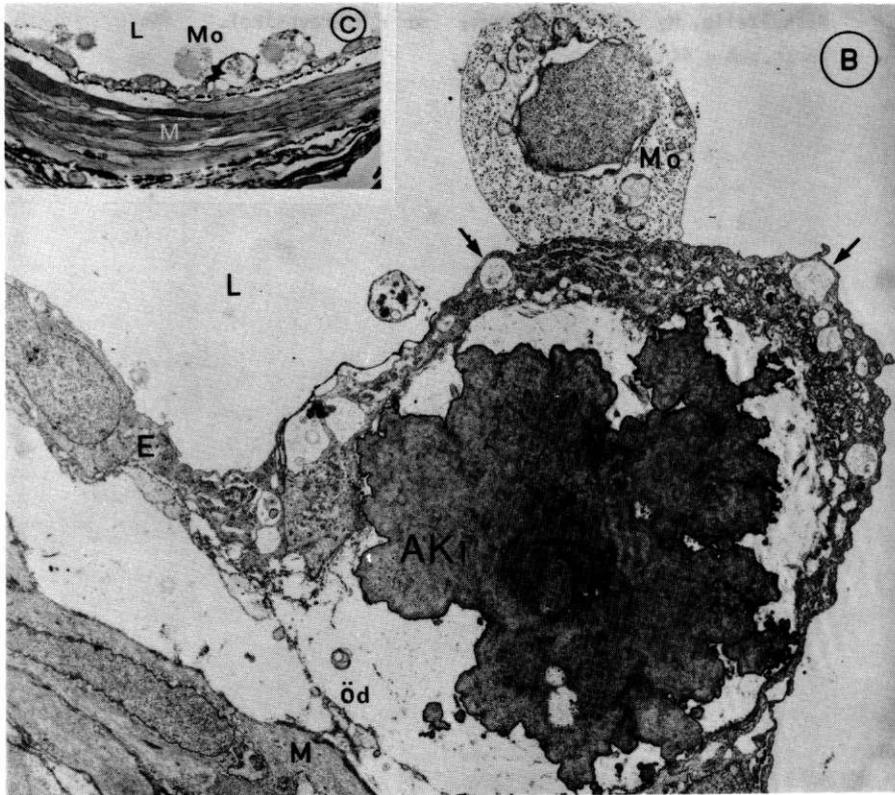
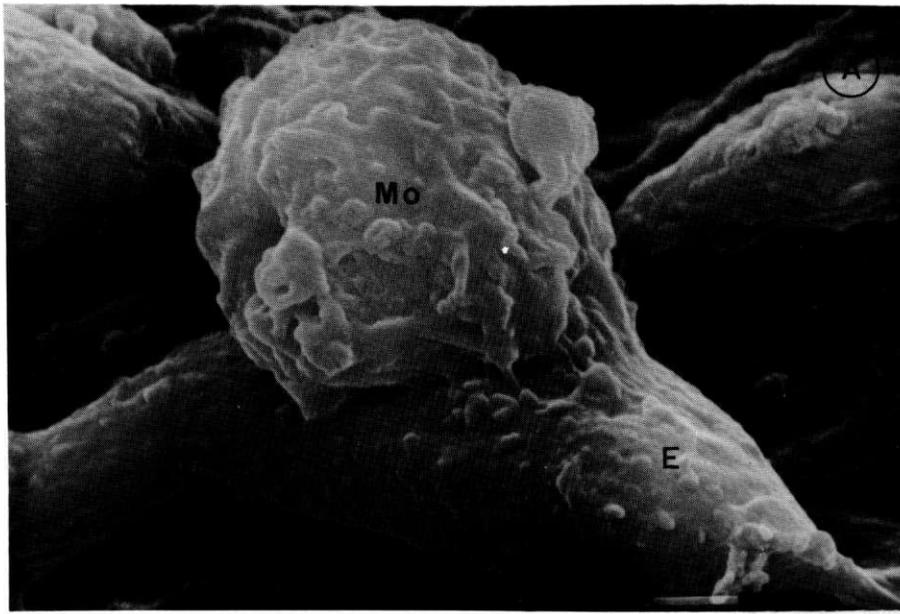


Abb. 15:

Transmissionselektronenmikroskopische Darstellung von Anfangsstadien asteroider Körperchen (AK_1) sowie Protrusionen glatter Muskelzellen. P_1 in der Nähe der Zellen, P_2 deutlich von der Mutterzelle getrennt. Drei Monate altes Pferd.

L = Lumen, E = Endothel, El = Lamina elastica interna, M = glatte Muskelzelle, My = Myelinfiguren, \rightleftharpoons = Mikrovesikel.

Vergr.: A = 4400 x; B = 22.000 x.

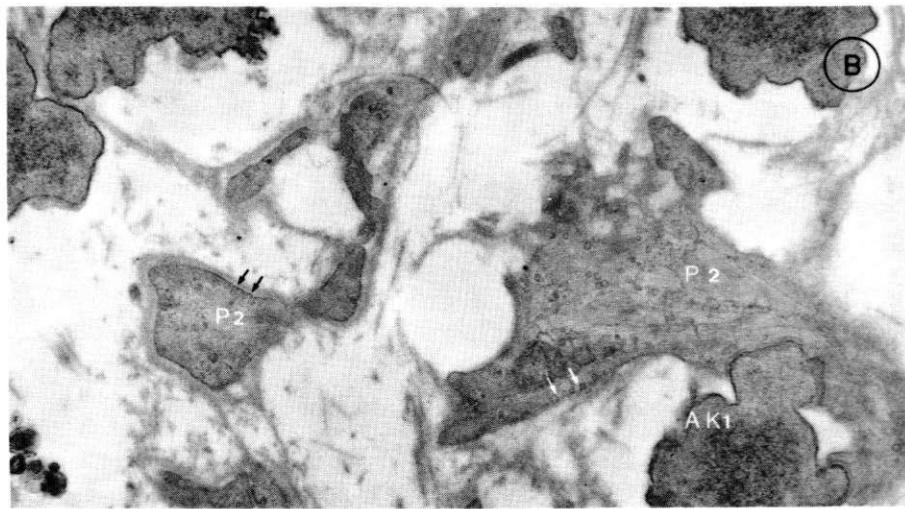
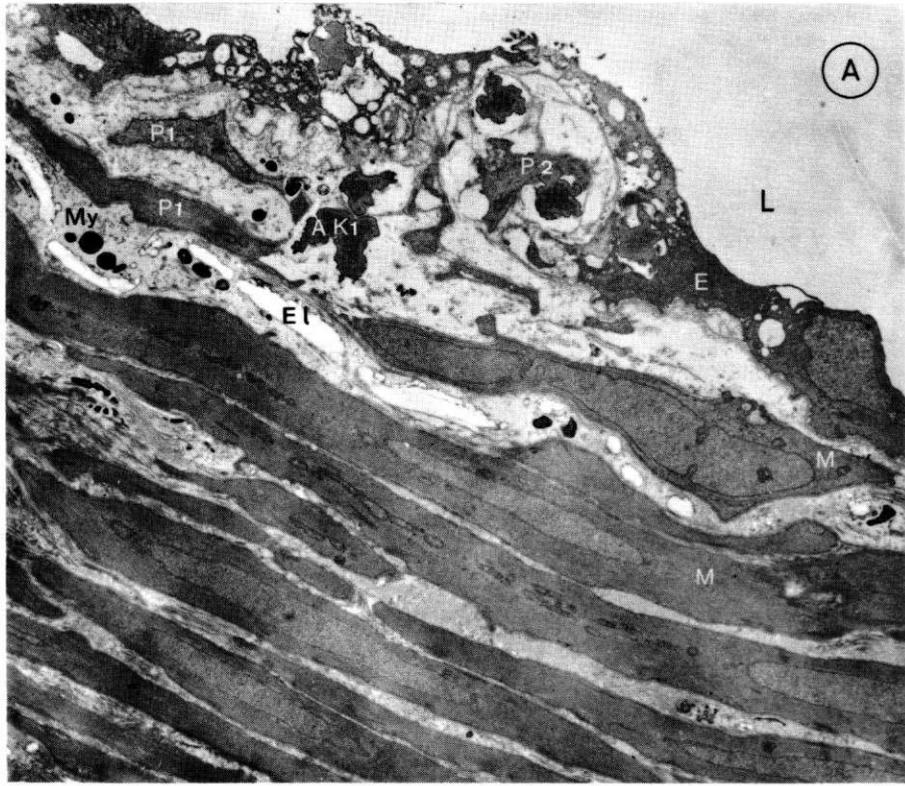


Abb. 16:

Transmissionselektronenmikroskopische Darstellung asteroider Körperchen eines 6 Jahre alten Pferdes. Hochgradige Verkalkung bei verschiedenen Schnittebenen (16 A und B). In B deutlich erkennbare konzentrische Schichtung. Kaum aktivierte glatte Muskelzellen (M), daneben Kollagenfasern (Ko). L = Lumen, E = Endothel, P₂ = Protrusion, AK₂ = asteroide Körperchen, P₁ Protrusion, E1 = Lamina elastica interna. Vergr.: A = 5500 x; B = 4400 x.

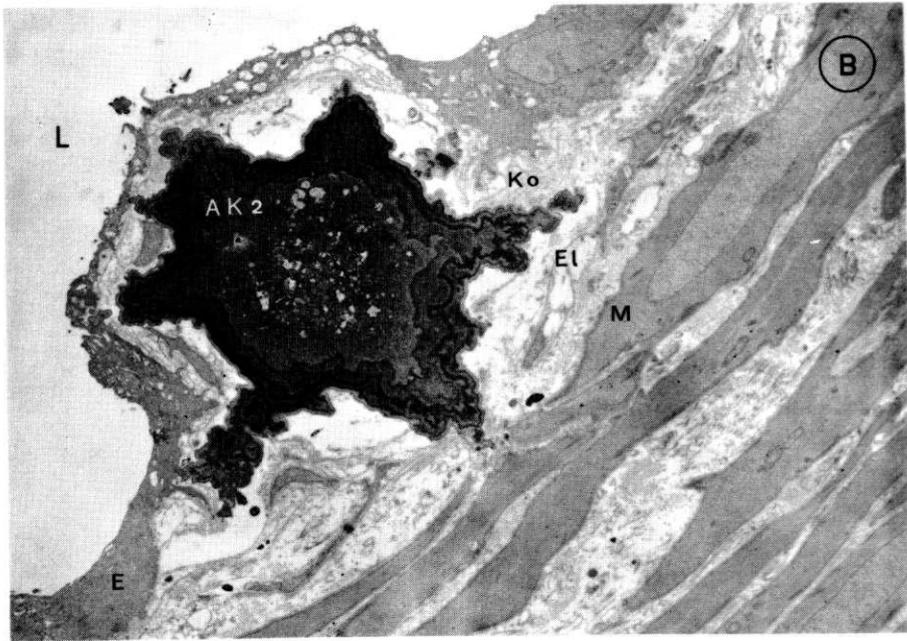
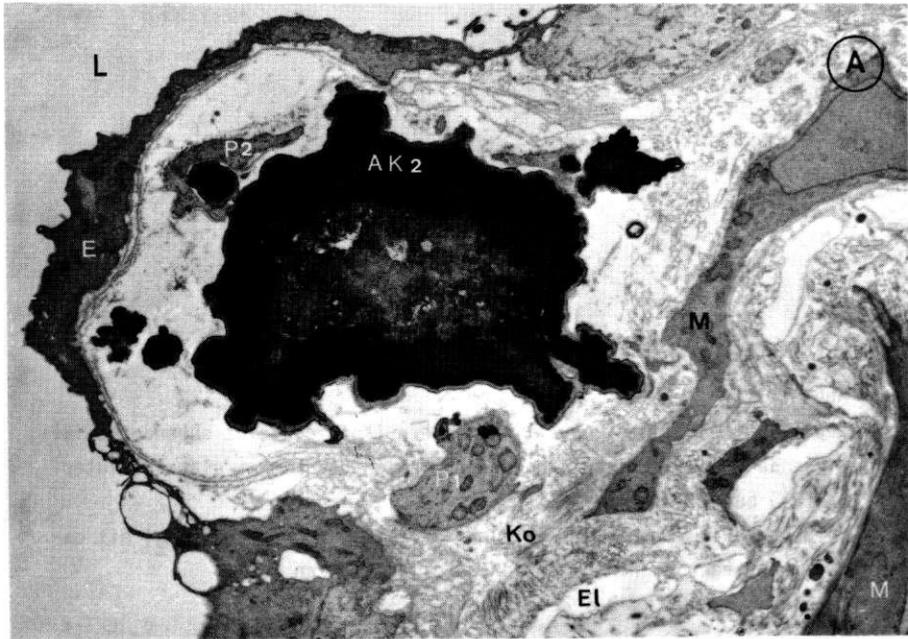


Abb. 17:

Deutliche Ausbildung von Kollagenfasern (Ko), einzelne subendothelial liegende Protrusionen (P_1) und Regeneration der Lamina elastica interna (E1) bei einem 6 Jahre alten Pferd..

B) Hochgradig verkalkte Teile von asteroiden Körperchen (AK_2) mit dazwischenliegenden reparatorischen Kollagenfasern (Ko).

Vergr.: A = 4400 x; B = 22.000 x.

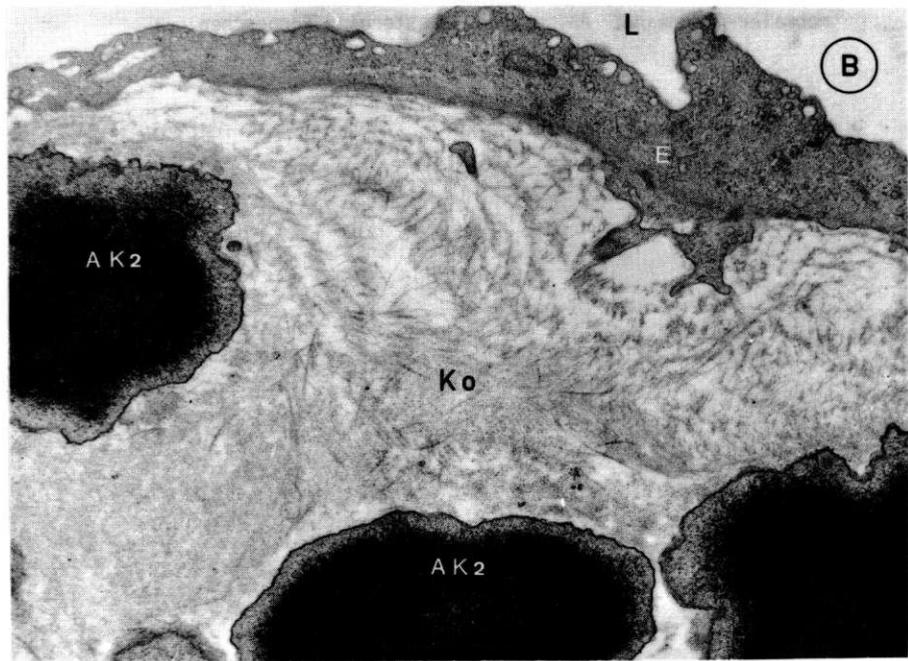
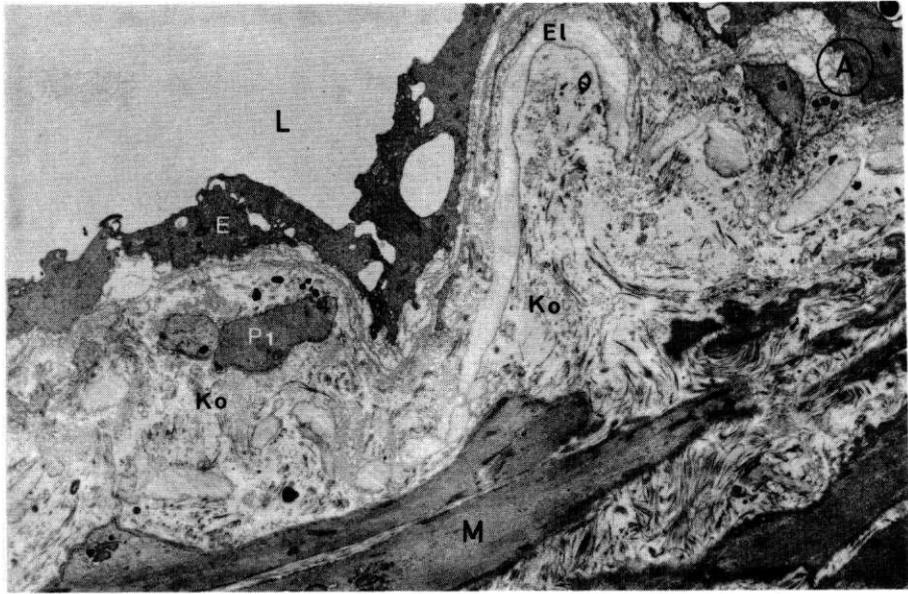
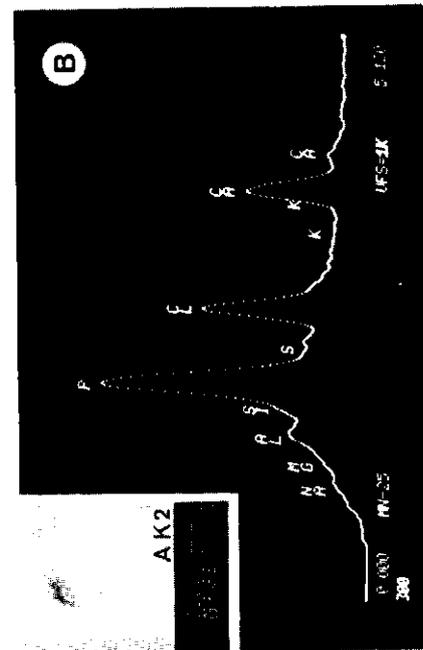
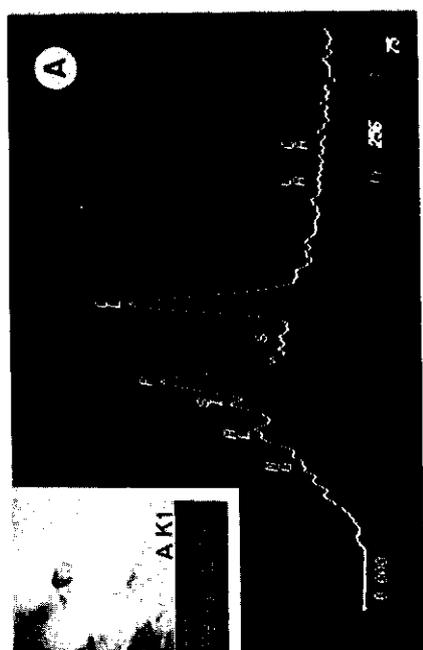
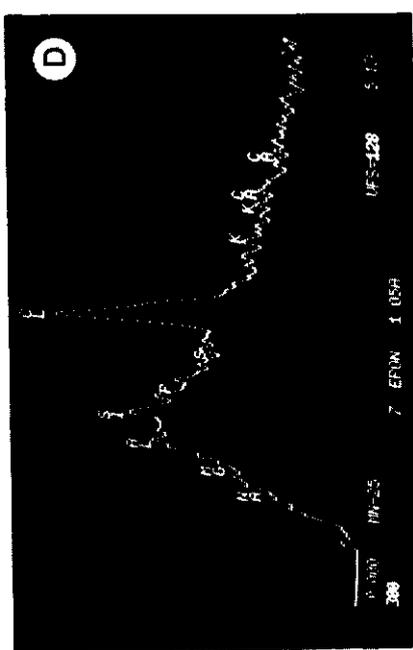
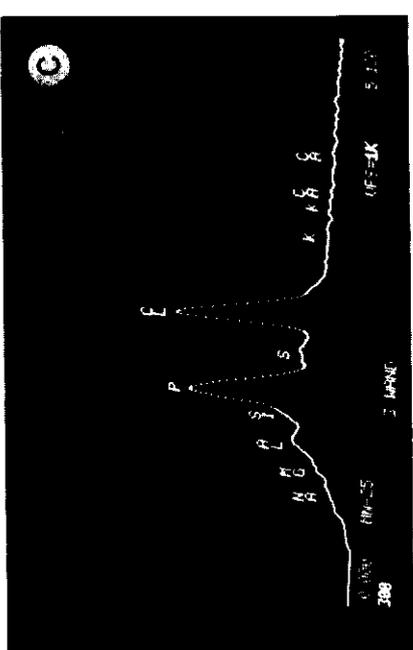


Abb. 18:

Graphische Darstellung der Ergebnisse energiedispersiver Röntgenmikroanalysen. A) asteroide Körperchen, drei Monate altes Pferd, geringgradiger Kalziumanteil; Inset: Polaroid-Aufnahme der untersuchten Lokalisation. B) asteroide Körperchen, 6 Jahre altes Pferd, hoher Kalziumanteil; Inset: Polaroid-Aufnahme der untersuchten Lokalisation. C) und D) Verteilung der Elemente in Epon 812 und normaler Gefäßwand. AK_1 und AK_2 = asteroide Körperchen.



die Elemente Phosphor und Chlor nachzuweisen. Deutliche Unterschiede in der Röntgenintensität der K_{α} -Linie des Chlor zwischen "asteroiden Körperchen", Arterienwand und Arterienlumen können nicht beobachtet werden. Röntgenstrahlung der K_{α} -Linie des Phosphor ist nur in den asteroiden Gebilden nachzuweisen.

Außerdem sind auch die Elemente Aluminium, Silicium und Schwefel bei den mikroanalytischen Untersuchungen vorhanden. Hierbei ist das Vorkommen von Schwefel auf das asteroide Körperchen und das dieses direkt umgebende Gewebe begrenzt.

Die Elemente Natrium, Magnesium und Kalium sind bei den durchgeführten Untersuchungen nicht nachgewiesen worden.

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Ursache und Pathogenese der insbesondere in den kleinen Darmarterien des Pferdes vorkommenden asteroiden Körperchen ist sehr verschieden interpretiert worden (BOLLINGER 1869; KIKUCHI 1925; ENIGK 1951b; MAURER und McCULLY 1963; MARCUS und ROSS 1967; DAHME 1970; ESTES und CHEVILLE 1970; MONTALI et al. 1970; PAULI 1973).

Vorwiegend werden wandernde Larven von *Strongylus vulgaris* als Verursacher angenommen (BOLLINGER 1869; HOBMAIER 1922; KIKUCHI 1925; ENIGK 1951b). Auf diese parasitäre Verursachung weisen auch die hier vorliegenden Untersuchungen hin. Es sollte jedoch zunächst versucht werden, qualitative und topographische Aspekte mit neueren Methoden zu klären.

Das Injizieren verschiedener Substanzen in das Gefäßlumen gehört zu den ältesten Präparationstechniken (PIECHOCKI 1961), kam jedoch im Zusammenhang mit der Darstellung von asteroiden Körperchen beim Pferd bislang nicht zur Anwendung. Nach den hier durchgeführten Untersuchungen ist die Fixierung mit Agar gefüllter Gefäße und die anschließende Färbung mit Alizarinrot als eine grob-orientierende Methode zum Nachweis kleiner mit Kalkablagerungen einhergehender Endothelläsionen anzusehen. Mit dieser Methode kommt sehr gut zum Ausdruck, daß die asteroiden Verkalkungen punktförmige Gebilde sind. Als Nachteil hat sich erwiesen, daß derart behandeltes Material für eine rasterelektronenmikroskopische Untersuchung nicht mehr verwendbar ist.

Die lichtmikroskopisch erhobenen Befunde entsprechen weitgehend denen von BOLLINGER (1869), HOBMAIER (1922), KIKUCHI (1925), KRAUSE (1927), MARCUS und ROSS (1967) sowie MONTALI et al. (1970). Übereinstimmend werden am häufigsten im Magen-Darmtrakt veränderte Gefäße beobachtet. Dagegen sind bezüglich des Vorkommens in anderen Organen und hinsichtlich des Alters der Tiere kleine Unterschiede zu den genannten Autoren festzustellen, die durch Art und Menge des untersuchten Tiermaterials sowie unterschiedliche Lokalisationen bedingt sein dürften. Außerdem kann die von MONTALI et al. (1970) beschriebene stark positive Eisenreaktion nicht bestätigt werden, ebensowenig die geringe Schwankungsbreite der Zahl der asteroiden Körperchen pro Gefäß. Weiterhin traten im vorliegenden Material Gefäßwandödeme und Proliferation "myointimaler

Zellen" auf (BUCK 1961), die eine Verdickung der Intima verursachen und auch von JUBB und KENNEDY (1970) beschrieben wurden. Die Aufspaltung der Lamina elastica interna, die als Voraussetzung für eine verstärkte Einwanderung von glatten Muskelzellen in den subintimalen Raum anzusehen ist, wurde bisher nicht mit dem Auftreten von asteroiden Körperchen in Zusammenhang gebracht. Die vorliegenden Befunde zeigen jedoch, daß vor allem bei jungen Tieren die Elastica-Aufspaltung und die Präsenz von glatten Muskelzellen unter der Intima häufig gleichzeitig beobachtet werden. Bei älteren Pferden scheinen im Bereich der Intima und des subintimalen Raumes regenerative Prozesse abzulaufen. Das Intimaödem ist sehr wahrscheinlich durch eine erhöhte endotheliale Permeabilität bedingt (HOLLE et al. 1974; ROTTER 1978). Die in Tabelle I aufgeführten Befunde scheinen in ihrer Aussage eindeutig zu sein, obwohl die Beurteilung des Grades der Veränderungen subjektiv bleibt. Die PAS-Reaktion ermöglicht in allen Altersgruppen eine sichere Diagnose der asteroiden Körperchen, obwohl diese Korpuskeln für den geübten Untersucher bereits in der HE-Färbung ohne größere Schwierigkeiten zu erkennen sind. Wie die Kossa-Färbung zeigt, tritt die Verkalkung der Körperchen erst bei Tieren im Alter von drei Monaten auf. Die positive Feulgen-Reaktion, bereits von MONTALI et al. (1970) beschrieben, ist auch am vorliegenden Material zu beobachten und gibt Hinweise auf Kernsubstanzbestandteile in den Körperchen, wie auch die Färbung mit Methylgrün (HOBMAIER 1922).

Die Darstellung des Muskelzellverbandes, der aufgesplitterten Lamina elastica interna und der Form der asteroiden Körperchen ist am deutlichsten an Toluidinblau-gefärbten Semidünnschnitten. Während ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von asteroiden Körperchen und Intimaveränderungen eindeutig erscheint, ist es schwierig, Media- und Adventitia-Alterationen ebenfalls als deren Folgen nachzuweisen. Denn wie KRAUSE (1927) und COLOMBO (1959) angeben, sind Gefäßwandtransformationen altersabhängig und daher die Grenzen zwischen "normal" und "verändert" oft schwierig zu ziehen. Bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Fetten waren Gefäßwandveränderungen jedenfalls nicht festzustellen, was mit Befunden von KIKUCHI (1925) und ENIGK (1951a) übereinstimmt.

Das Rasterelektronenmikroskop wurde in der vorliegenden Arbeit erstmalig zur Untersuchung der asteroiden Körperchen beim Pferd eingesetzt. Es fällt, wie schon bei der Stereolupenbetrachtung, die nahezu regelmäßige Verteilung der asteroiden Körperchen auf. In der die asteroiden Körperchen bedeckenden Endotheloberfläche sieht man z.T. Poren und häufig, besonders bei erwachsenen Pferden, größere und unregelmäßig geformte Defekte. Sie entstehen möglicherweise dadurch, daß die unelastischen Verkalkungen intravital, aber auch während der präparativen Arbeiten zur mechanischen Zerreißung der Endothelzelle führen.

Form und Größe der asteroiden Körperchen sind rasterelektronenmikroskopisch optimal zu beurteilen. Die Größe beträgt, wie schon BOLLINGER (1869) und MONTALI et al. (1970) angeben, 5 - 20 µm. Die Form ist sehr variabel und bei jungen Tieren als sanddünenartig zu beschreiben. Ähnliche Befunde wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie an der Arteria pulmonalis von Hunden erhoben, die einen *Dirofilaria*-Befall aufweisen (MUNNEL et al. 1980; SCHAUB und RAWLINGS 1980) und an der Arteria carotis des Kaninchens nach Elektroschock (EITEL et al. 1980). Jedoch waren diese Gebilde kleiner als die asteroiden Körperchen des Pferdes, und die Endothelzellen zeigten dort eine abweichende Axialanordnung. Die Autoren vermuten, daß hämodynamische Faktoren und glatte Muskelzellen, ähnlich wie im Initialstadium der Arteriosklerose, an der Entstehung dieser Protrusionen beteiligt sind.

Die Lokalisation der Körperchen ist transmissionselektronenmikroskopisch eindeutig bestimmbar. Sie liegen nicht, wie lichtoptische Befunde vermuten lassen, in den Endothelzellen. Die Befunde bestätigen die Vermutung von MONTALI et al. (1970), daß es sich bei den asteroiden Körperchen nicht um Endothelzelleinschlüsse handelt, sondern daß sie unter der Endothelzellschicht liegen und diese in das Gefäßlumen vorwölben.

Im vorliegenden Material wurden Strukturen beobachtet, die dafür sprechen, daß es sich bei den asteroiden Körperchen um Degenerationsprodukte von glatten Muskelzellen handelt. Diese Möglichkeit wurde schon von MONTALI et al. (1970) diskutiert. In der Initialphase besteht in der Subintima ein Ödem. Anschließend wandern transformierte glatte Muskelzellen, oder, wie BUCK (1961) sie bezeichnet, "myointimale Zellen" ein, und im Endstadium schließen sich Reparationsprozesse mit Vermehrung

der Kollagenfasern an. Die Beteiligung glatter Muskelzellen an verschiedenen Reparationsvorgängen, z.B. bei Thrombose und Arteriosklerose, wurde vielfältig nachgewiesen (PARKER und ODLAND 1966; BJÖRKERUD 1969; JURUKOVA 1969; ROSS und GLOMSET 1973; JORIS und MAJNO 1974; OGBOURNE und DUNCAN 1977; PAULI et al. 1975; SCHULZ et al. 1980 und TRILLO 1981). Ein Endotheldefekt ist für die Aktivierung dieser Zellen nicht unbedingt notwendig (EITEL et al. 1980). Die Wanderung der Zellen aus der Muskelschicht zum subendothelialen Raum durch die Lücken der Lamina elastica interna ist bei jungen Tieren offensichtlich stärker als von SCHULZ (1980) in Rotlaufinfektionsversuchen an der Ratte festgestellt wurde.

MARCUS und ROSS (1967) erwähnen erstmalig keine Beziehung zwischen asteroiden Körperchen und Arteriosklerose, später haben dagegen MONTALI et al. (1970) eine solche konstatiert.

Eine Aktivierung der glatten Muskelzellen, wie von PARKER und ODLAND (1966), KNIERIEM (1967) und PAULI et al. (1975) beschrieben, wurde in unserem Material im Bereich des subintimalen Raumes und in den oberen Schichten der Muscularis beobachtet. Während die rasterelektronenmikroskopisch feststellbaren Poren in der Endothelschicht mit der Transmissionselektronenmikroskopie als Makrovesikel, die dem Transport von Substanzen dienen, identifiziert werden können, ist die Bedeutung der großen Endotheldefekte zweifelhaft. Das Fehlen von Thrombozytenaggregaten und anderen, eine Thrombenbildung einleitenden Blutbestandteilen sowie die erhaltene Basalmembran lassen eine artifizielle Entstehung während der Präparation vermuten. Andererseits können an dem unter Spannung stehenden und nachweislich stark verdünnten Endothel intravitale Defekte nicht ausgeschlossen werden.

Eine genaue chemische Analyse der asteroiden Körperchen ist bisher nicht durchgeführt worden. Die Meinungen über ihre Zusammensetzung gehen weit auseinander (BOLLINGER 1869; KRAUSE 1927; DAHME 1970; MONTALI et al. 1970; NIEBERLE und COHRS 1970). Allein CONSTANTINESCU (1921) stellt in Frage, ob Kalzium als Bestandteil asteroider Körperchen auftritt. Die wichtigsten, in den asteroiden Körperchen vorkommenden Elemente scheinen Kalzium, Phosphor und Schwefel zu sein. An dieser Stelle sei noch einmal darauf hingewiesen, daß beim alten Pferd der Kalziumgehalt höher als

bei jungen Tieren ist. Da die Intensität der Röntgenstrahlung des Phosphors in den asteroiden Körperchen adulter Tiere die des benachbarten Gewebes deutlich übersteigt, kann Phosphor als ein Bestandteil der Gebilde angesehen werden. Die Schwefel-Röntgenintensität ist stets geringer als die des Phosphors und Kalziums, woraus man schließen kann, daß dieses Element in den untersuchten Bereichen in wesentlich niedrigeren Konzentrationen vorkommt. Chlor ist nicht als Bestandteil der Körperchen anzusehen, da dieses Element im Kunstharz des Semidünnschnittes (Epon 812) enthalten ist. Auch Aluminium und Silizium sind bei den Auswertungen nicht zu berücksichtigen, da Silizium in dem Diffusionspumpöl und Aluminium als Material im elektronenoptischen Strahlengang des benutzten Gerätes vorkommen.

Unter Berücksichtigung der erhobenen Befunde und des hohen Kalziumgehaltes der glatten Muskelzelle (TRILLO 1981) ist anzunehmen, daß Degenerationsvorgänge dieser Zellen oder ihrer Fortsätze den Ausgangspunkt der asteroiden Körperchen darstellen. Als Ursachen kommen Toxineinwirkung (TRILLO 1981) oder mechanische Faktoren, die auf die Gefäße einwirken, in Frage. Diese Vorgänge laufen im Sinne einer dystrophischen Verkalkung ab (CARLSTRÖM 1953; DAHME 1970; JUBB und KENNEDY 1970 und NIEBERLE und COHRS 1970). Darüber hinaus könnte das Vorhandensein einer großen Menge von Mucopolysacchariden entweder auf die Reaktion glatter Muskelzellen (JARMOLYCH et al. 1968 und WOLINSKY 1973) oder den erhöhten Transport durch die geschädigten Endothelzellen zurückzuführen sein (JØRGENSEN et al. 1972) und somit zu einer sekundären Verkalkung führen. Dieser Weg wird als eine spezielle Form der Verkalkung mit besonderer Kristallisation bezeichnet (DAHME 1970) und ist als Besonderheit der Equiden anzusehen.

Da morphologisch-qualitative Untersuchungen nicht vollkommen isoliert betrachtet werden können, sollen im folgenden einige Aspekte der Ätiologie und Pathogenese asteroider Körperchen diskutiert werden.

Ein Zusammenhang zwischen Senilität und Entstehung der Körperchen, der von CONSTANTINESCU (1921) erwähnt wird, ist auszuschließen, da die Veränderungen auch bei jungen Tieren vorkommen.

Die Beziehung zwischen den asteroiden Körperchen und der Virus-Arteriitis der Pferde sind sehr widersprüchlich. Obwohl ROMBOLI et al. (1975) sie

als typisch für die Arteriitis hielten, konnten sie CRAWFORD und HENSON (1972) bei dieser Erkrankung nicht beobachten. Auch ESTES und CHEVILLE (1970) sehen keinen Zusammenhang. Außerdem ist festzustellen, daß die asteroiden Verkalkungen sowohl bei gesunden als auch bei kranken Pferden auftreten.

Eine Koinzidenz von *Strongylus-vulgaris*-Befall und dem Vorkommen asteroider Körperchen wurde schon von BOLLINGER (1869), HOBMAIER (1922), KIKUCHI (1925), ENIGK (1951 b) diskutiert.

Der Anstieg von Serumproteinen bei Wurmbefall der Pferde ist oft beschrieben worden (ROUND 1970; AMBORSKI et al. 1974 und GREATOREX 1977) und erhöhte Immunglobulin-T-Werte bei Ponies wurden als Immunantwort bei experimenteller *Strongylus vulgaris*-Infektion (DUNCAN 1973; PATTON et al. 1978) festgestellt.

Auch sind verkalkte Knoten der großen Arterien bei Pferden schon früh mit traumatischen Einwirkungen der Strongylidenlarven bzw. mit den durch sie freigesetzten Toxinen in Zusammenhang gebracht worden (ROMANOV 1929). Aus den Arbeiten von DRUDGE und LYONS (1976) geht hervor, daß in der Mehrzahl der Fälle die parasitär bedingten Veränderungen durch unreife Larven hervorgerufen werden. Andererseits berichten MONTALI et al. (1970) und PAULI et al. (1971) über asteroide Degenerationen der Intima, die in keiner Beziehung zum Strongyliden-Befall stehen sollen. GREATOREX (1977) stellt fest, daß 95 % aller Pferde mit Kolik-Syndrom Gefäßveränderungen aufweisen, die auf die Wanderung von *Strongylus vulgaris* zurückzuführen sind.

Unter Berücksichtigung des deutlich vermehrten Vorkommens asteroider Körperchen in den arteriellen Gefäßen des Magen-Darmtraktes und des häufigen Nachweises von Eiern oder Larven von Strongyliden ist ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Körperchen und den Wanderwegen der Parasiten als wahrscheinlich anzusehen. Morphologische Hinweise, wie z.B. Immunkomplexablagerungen im Bereich der Gefäßwände, waren bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen nicht festzustellen. Es ist anzunehmen, daß neben der mechanischen Einwirkung der Larven auch ihre Toxine eine Bedeutung in der Pathogenese der asteroiden Körperchen besitzen, wobei als erster auslösender Schritt die Irritation der Intima auftritt.

Weiterhin besteht die Möglichkeit, daß die Körperchen wegen des zahlreichen Vorkommens und als deutlich ins Gefäßlumen hineinragende Erhebungen, besonders bei älteren Pferden, als Hindernisse im Blutstrom wirken und so auch zu rheologischen Problemen führen können. Auf Veränderungen der Adhäsivität im Bereich der asteroiden Körperchen weisen die im vorliegenden Untersuchungsmaterial gelegentlich nachweisbaren Stickingphänomene hin.

In weiteren Arbeiten sollte insbesondere die Rolle von *Strongylus vulgaris* bei der Entstehung der Körperchen untersucht werden, indem Befunde von parasitenfrei aufgezogenen Pferden mit den Ergebnissen dieser Arbeit verglichen werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In einer Literaturübersicht werden die bisher beschriebenen morphologischen Befunde bei den sogenannten asteroiden Körperchen in den arteriellen Gefäßen der Pferde zusammengefaßt.

Bei 51 Pferden beiderlei Geschlechts, vom fetalen Organismus bis zum alten Pferd, wird neben einer Lupenuntersuchung eine systematische lichtmikroskopische Untersuchung durchgeführt. Dabei zeigt sich, daß die Körperchen frühestens im Alter von 4 Wochen auftreten, bei über drei Monate alten Tieren sind sie regelmäßig nachweisbar. Zu diesem Zeitpunkt können auch erste Verkalkungen festgestellt werden.

Mit Hilfe von erstmals durchgeführten rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen lassen sich beim jungen Tier überwiegend glatte Endothelvorwölbungen darstellen, während die Körperchen des adulten Pferdes eine gewisse Formenvielfalt und meist zahlreiche Fortsätze aufweisen.

Mittels Transmissionselektronenmikroskopie sieht man im Bereich der Intima des Fohlens eine Ödematisierung sowie eine Aufsplitterung der Lamina elastica interna und aktivierte glatte Muskelzellen, die Protrusionen ausbilden und z.T. in den subendothelialen Raum gerichtet sind. Im Zentrum der Körperchen erkennt man deutlich Bestandteile von Zellkernen und Reste membranöser Strukturen, so daß die Entstehung der asteroiden Körperchen aus glatten Muskelzellen bzw. ihren Fortsätzen als gesichert angenommen werden kann.

Die Körperchen des erwachsenen Pferdes sind meist hochgradig verkalkt, weisen eine deutliche Sternform auf und zeigen, je nach Anschnitt, eine konzentrische Schichtung.

In einigen Gefäßabschnitten sind Regenerationsprozesse mit Vermehrung von Kollagenfasern und einer Reorganisation der Lamina elastica interna zu beobachten. Gelegentlich kommt es im Bereich der asteroiden Körperchen zum Sticking monozytärer Zellen.

Eine "Energiedispersive Röntgenmikroanalyse" ergibt neben einem deutlichen Gehalt an Phosphor beim jungen Tier einen geringen, beim alten Pferd einen hohen Kalziumanteil.

Die morphologischen Befunde werden anhand der Literatur diskutiert, wobei auch kurz auf Möglichkeiten der Pathogenese und Ätiologie eingegangen wird.

5. SUMMARY

The literature concerning the morphology of so-called asteroid bodies (intimal bodies) in arteries of the horse is reviewed.

A light microscopic study was performed in 51 horses of both sexes and various age, including feti and aged horses. Asteroid bodies were observed as early as 4 weeks of age and occurred regularly in animals older than 3 months. At this age, early stages of mineralization were also to be seen.

A scanning electron microscopic study revealed in young animals smooth endothelial protuberances, whilst the asteroid bodies of adult horses showed a variety of forms and often numerous prolongations. Using transmission electron microscopy oedema of the intima, splitting of the Lamina elastica interna, and activation of smooth muscle cells, with protrusions towards the subendothelial space, becomes evident in foals. The center of the bodies contains remnants of nuclei and membranous structures. Thus, asteroid bodies most likely are derived from smooth muscle cells and their processes.

In some arteries regeneration with increase in collagen fibers and reorganisation of the Lamina elastica interna was observed. Occasionally, there is sticking of monocytes in the area of asteroid bodies.

The "energy-dispersive X-ray microanalysis" reveals in the asteroid body a marked content of phosphorus in the young horse and a high calcium content in the old horse.

The morphological findings are discussed in the context of literature considering also the possibilities of pathogenesis and aetiology.

5. RESUMO

Em uma revisão da literatura sobre os chamados "corpos asteróides" das artérias do cavalo, foram resumidos os achados morfológicos até então descritos.

Foram utilizados 51 equinos de ambos os sexos, compreendendo desde organismos fetais até animais com idade avançada, dos quais colheu-se espécimes de vários órgãos para exames microscópicos sistemáticos, inclusive com auxílio de estereomicroscópio. Através dos estudos realizados, ficou evidente que os corpos asteróides se faziam presentes em animais jovens, já mesmo na quarta semana de vida, sendo encontrados regularmente nos animais com mais de três meses. A partir dessa idade, foram observadas as primeiras calcificações a nível dos corpos.

Aqui pela primeira vez foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura na investigação dos corpos asteróides. Com isso, os endotélios dos vasos arteriais no animal jovem, mostraram-se abaulados e com superfície lisa, enquanto que, os corpos asteróides do animal adulto, revelaram-se multiformes e a maioria deles apresentou prolongamentos em direção à luz vascular.

O emprego da microscopia eletrônica de transmissão, possibilitou melhor diagnóstico não só do edema intimal e das soluções de continuidade da lamina elástica interna no cavalo jovem, bem como, da ativação das células musculares lisas, as quais, através de protrusões de partes do seu citoplasma, ou mesmo de toda a célula, às vezes tinham migrado para o espaço subendotelial. Nesse caso, no centro dos corpos asteróides e nunca em seus prolongamentos, diagnosticou-se estruturas com características de núcleo e também detritos membranosos outros, o que assegura a possibilidade de terem tido como origem as células musculares lisas. As formações asteróides do animal adulto, eram na maioria bem mais calcificadas e mostravam uma típica forma estrelar. De acordo com a angulação do corte examinado, revelavam uma disposição em camadas concêntricas, e em algumas partes dos vasos, verificaram-se processos regenerativos, como proliferação de fibras colâgenas e reorganização da membrana elástica interna. Ocasionalmente, foi detectada a presença de "Sticking-cells" nas proximidades dos corpos asteróides, onde o endotélio projetava-se acentuadamente para a luz vascular.

Os estudos dos corpos asteróides realizados com o uso de microanálise por raios-X e dispersão energética (EDXA) evidenciaram um nítido teor de fósforo no caso do animal jovem, enquanto que no animal adulto o conteúdo de cálcio foi bem maior.

As alterações morfológicas foram comparadas em relação àquelas da literatura consultada, diante do que, tornou-se viável uma discussão sucinta da provável etiopatogenia.

6. LITERATURVERZEICHNIS

ABRAHAM, J.L. (1979):

Diagnostic Applications of Scanning Electron Microscopy and
Microanalysis in Pathology.

Israel J. Med. Sci. 15, 716 - 722

AMBORSKI, F.T., R. BELLO und B.J. TOBERT (1974):

Host Response to Experimentally Induced Infections of *Strongylus*
vulgaris in Parasite-Free and Naturally Infected Ponies.

Am. J. vet. Res. 35, 1181 - 1188

BARROS, S.S., E. TABONE, M. SANTOS, M. ANDUJAR und J.-A. GRIMAUD (1981):
Histopathological and Ultrastructural Alterations in the Aorta in Expe-
rimental *Solanum malacoxylon* Poisoning.

Virch. Arch. B. Cell Pathol. 35, 169 - 175

BJÖRKERUD, S. (1969):

Reaction of the Aortic Wall of the Rabbit After Superficial Longitudinal,
Mechanical Trauma.

Virch. Arch. A. Pathol. Anat. 347, 197 - 210

BOLLINGER, O. (1869):

Über eigentümliche Körperchen in den feinen Arterien des Intestinal-
tractus bei Pferden.

Virch. Arch. Path. Anat. Physiol. Klin. Med. 47, 89 - 95

BUCK, R.C. (1961):

Intimal Thickening After Ligature of Arteries. An Electron-Microscopic
Study.

Circ. Res. 9, 418 - 426

- BURCK, H.-C. (1981):
Histologische Technik, 4. Aufl.
Thieme Verlag, Stuttgart
- BURNETT, S.H. (1913):
Arterial Sclerostomatosis in the Horse.
Cornell Vet. 2, 72 - 80
- COFFMAN, J.R. und K.L. CARLSON (1971):
Verminous Arteritis in Horses.
J. Am. vet. med. Ass. 158, 1358 - 1360
- COLOMBO, S. (1959):
Le modificazioni e gli inspessimenti dell'intima arteriosa negli animali (Parte prima).
Clin. Vet. 82, 65 - 129
- CARLSTRÖM, D., B. ENGEFELDT, A. ENGSTRÖM und N. RINGERTZ (1953):
Studies on the Chemical Composition of Normal and Abnormal Blood Vessel Walls. I. Chemical Nature of Vascular Calcified Deposits.
Lab. Invest. 2, 325 - 335
- CONSTANTINESCU, G. (1921):
Beiträge zur Frage der Sterilitätsursachen bei den Stuten mit besonderer Berücksichtigung der histologischen Veränderungen des Uterus.
Berlin, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- CRANLEY, J.J. und K.G. McCULLAGH (1981):
Ischaemic myocardial fibrosis an aortic strongylosis in the horse.
Equine vet. J. 13, 35 - 42
- CRAWFORD, T.B. und J.B. HENSON (1972):
Viral arteritis of horses.
Advances Exp. Med. Biol. 22, 175 - 183

- DAHME, E.G. (1970):
Blutgefäße
in: JOEST, E. (Hrsg.): Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie
der Haustiere. Bd. 2. Verlag Parey, Berlin, S. 285 - 294
- DRUDGE, J.H. und E.T. LYONS (1976):
Zur Pathologie des Endoparasitenbefalls beim Pferd.
Blaue H., Hoechst AG und Behringwerke AG, 55, 219 - 227
- DUNCAN, J.L. (1973):
The life cycle, pathogenesis and epidemiology of *Strongylus vulgaris* in
the horse.
Equine vet. J. 5, 20 - 25
- DUNCAN, J.L. und H.M. PIRIE (1975):
The pathogenesis of single experimental infections with *Strongylus*
vulgaris in foals.
Res. vet. Sci. 18, 82 - 93
- EITEL, W., G. SCHMID, W. SCHLOTE und E. BETZ (1980):
Early arteriosclerotic changes of the carotid artery wall induced by
electrostimulation. A study by Scanning and Transmission Electron Microscopy.
Path. Res. Pract. 170, 211 - 229
- ENIGK, K. (1951a):
Weitere Untersuchungen zur Biologie von *Strongylus vulgaris* (Nematodes)
im Wirtstier.
Z. Tropenmed. Parasit. 2, 523 - 535
- derselbe (1951b):
Die Pathogenese der thrombotisch-embolischen Kolik des Pferdes.
Monatshefte für prakt. Tierheilkunde 3, 65 - 74
- ESTES, P.C. und N.F. CHEVILLE (1970):
The Ultrastructure of Vascular Lesions in Equine Viral Arteritis.
Am. J. Path. 58, 235 - 253

- FARRELY, B.T. (1954):
The pathogenesis and significance of parasitic endarteritis and thrombosis in the ascending aorta of the horse.
Vet. Rec. 66, 53 - 61
- GEER, J.C. (1965):
Fine structure of canine experimental atherosclerosis.
Am. J. Path. 47, 241 - 269
- GREATOREX, J.C. (1975):
Diarrhoea in horses associated with ulceration of the colon and caecum resulting from *S. vulgaris* larval migration.
Vet. Rec. 20, 221 - 225
- derselbe (1977):
Diagnosis and treatment of "verminous aneurysm" formation in the horse.
Vet. Rec. 101, 184 - 187
- GRESHAM, G.A. und A.N. HOWARD (1964):
The atherosclerotic lesion in some mammals. A comparative study.
Bull. Soc. R. Zool. Anvers. 34, 49 - 53
- GUPTA, P.P. und B. SINGH (1978):
Naturally occurring atherosclerotic lesions and ageing changes in the aorta of indian water buffaloes (*Bubalus bubalis*).
Zbl. Vet. Med. A, 25, 231 - 240
- HAUST, M.D., R.H. MORE und H.Z. MOVAT (1960):
The role of smooth muscle cells in the fibrogenesis of arteriosclerosis.
Am. J. Path. 37, 377 - 389
- HOBMAIER, M. (1922):
Über die Angermünder Fohlenseuche.
Berl. tierärztl. Wschr. 16, 181 - 184
- HOLLE, G., J. MASSMANN und H. WEIDENBACH (1974):
Experimentally induced early changes in arteries.
Path. europ. 9, 125 - 132

- HOWELL, L.M. (1977):
Verminous colic in horses.
Vet. Med. Sm. anim. Clin. 72, Nr. 5, 857 - 860
- JARMOLYCH, J., A.S. DAOUD, J. LANDAU, K.E. FRITZ und E. Mc ELVENE (1968):
Aortic Media. Cell Proliferation and Production of Mucopolysaccharides,
Collagen.
Exp. Mol. Path. 9, 171 - 188
- JONES, T.C., E.R. DOLL und J.T. BRYANS (1957):
The lesions of equine viral arteritis.
Cornell Vet. 47, 52 - 68
- JØRGENSEN, L., M.A. PACKHAM, H.C. ROWSELL und J.F. MUSTARD (1972):
Deposition of Formed Elements of Blood on the Intima and Signs of Intimal
Injury in the Aorta of Rabbit, Pig, and Man.
Lab. Invest. 27, 341 - 350
- JORIS, I. und G. MAJNO (1974):
Cellular Breakdown within the Arterial Wall. An Ultrastructural Study
of the Coronary Artery in Young and Aging Rats.
Virch. Arch. A Path. Anat. Histol. 364, 111 - 127
- JUBB, K.V.F. und P.C. KENNEDY (1970):
Pathology of domestic animals. 2. Aufl.
Bd. 2. The circulatory system.
Academic Press, New York
- JURUKOVA, Z. (1969):
67. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Beteiligung glatter
Muskelzellen der Arterienwand an der Organisation arterieller Thromben.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 53, 464 - 469
- KADYROV, N.T. (1979):
Clinic, pathogenesis and pathomorphology of experimental delafondiosis
in foals.
Helmintologica 16, 81 - 89

- KERÉNYI, T. und H. JELLINEK (1972):
Fibrin Deposition in Smooth Muscle Cells of Muscular Type Small
Arteries Under Temporary Conditions of Hypoxia.
Exp. Mol. Path. 17, 1 - 5
- KIKUCHI, K. (1925):
On the deposition of calcium granules in organ arteries of the horse.
J. centr. vet. Assoc. (Jap.)
zit. nach KRAUSE, C. (1927)
- KNIERIEM, H.J. (1967):
Electron-microscopic Study of Bovine Arteriosclerotic Lesions.
Amer. J. Path. 50, 1035 - 1065
- KNIERIEM, H.J., G. BONDJERS und S. BJÖRKERUD (1973):
Electron Microscopy of Intimal Plaques Following Induction of Large
Superficial Mechanical Injury (Transverse Injury) in the Rabbit Aorta.
Virch. Arch. Path. Anat. 359, 267 - 282
- KNIERIEM, H.J., V.C.Y. KAO und R.W. WISSLER (1966):
Demonstration of Smooth Muscle Cells in Bovine Arteriosclerosis.
An Immunohistochemical Study.
J. Atheroscler. Res. 8, 125 - 136
- KÜHLER, H. (1981):
Zur Kalzinose in Österreich. IX. Kalzinose beim Pferd?
Zbl. Vet. Med. A, 28, 187 - 200
- KRAUSE, C. (1927):
Pathologie der Blutgefäße der Tiere.
Ergebn. allg. Path. Anat. 22, 350 - 431
- KROOK, L., R.H. WASSERMAN, J.N. SHIVELY, A.H. TASHJIAN, T.D. BROKKEN
und J.F. MORTON (1975):
Hypercalcemia and calcinosis in Florida horses: Implication of the shrub,
Cestrum diurnum, as the causative agent.
Cornell vet. 65, 26 - 56
- MARCUS, L.C. und J.N. ROSS (1967):
Microscopic Lesions in the Hearts of Aged Horses and Mules.
Path. vet. 4, 162 - 185

- MAURER, F.D. und R.M. McCULLY (1963):
 African-Horse-Sickness - With Emphasis on Pathology.
 Am. J. vet. Res. 24, 235 - 266
- MONTALI, R.J., J.D. STRANDBERG und R.A. SQUIRE (1970):
 A histochemical and Ultrastructural Study of Intimal Bodies of Horse
 Arterioles.
 Lab. Invest. 23, 302 - 306
- MUNNEL, J.F., J.S. WELDON, R.E. LEWIS, D.E. THRALL und J.W. McCALL (1980):
 Intimal lesions of the pulmonary artery in dogs with experimental
 dirofilariasis.
 Am. J. vet. Res. 41, 1108 - 1112
- NIEBERLE, K. und P. COHRS (1970):
 Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.
 Bd. 1. Kreislauforgane.
 Fischer Verlag, Jena
- OGBOURNE, C.P. und J.L. DUNCAN (1977):
 Strongylus vulgaris in the horse: its biology and veterinary importance.
 Commonwealth Inst. Helmint. Misc. Publications, Nr. 4, 1 - 40
 Commonwealth Agricultural Bureaux, London
- OLT, G. (1900):
 Wanderungen des Strongylus armatus und Folgen seines Schmarotzerthums.
 Dtsch. tierärztl. Wschr. 381 - 383, 390 - 393, 401 - 404
- OTTAWAY, C.W. und M.L. BINGHAM (1941):
 Some records of parasitic aneurysm in clinically affected horses.
 Vet. Rec. 53, 275 - 282
- PARKER, F. und G.F. ODLAND (1966):
 A correlative histochemical, biochemical and electron microscopic study
 of experimental atherosclerosis in the rabbit aorta with special refe-
 rence to the Myo-intimal Cell.
 Am. J. Path. 48, 197 - 239
- PATTON, S., R.E. MOCK, J.H. DRUDGE und D. MORGAN (1978):
 Increase of immunoglobulin T concentration in ponies as a response to
 experimental infection with the Nematode.
 Am. J. vet. Res. 39, 19 - 23

- PAULI, B. (1973):
Koronarsklerose beim Pferd.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 115, 517 - 526
- PAULI, B., H. GERBER und P. CHUIT (1971):
Dünndarminfarkte beim Pferd. II. Pathologie und Pathogenese.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 113, 685 - 696
- PAULI, B., S. ALTHAUS und C. von TSCHARNER (1975):
Über die Organisation von Thromben nach Arterienverletzungen durch wandernde 4. Larvenstadien von *Strongylus vulgaris* beim Pferd (licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen).
Beitr. Path. 155, 357 - 378
- PIECHOCKI, R. (1961):
Makroskopische Präparationstechnik. Teil 1.
Akademischer Verlag Geest-Portig, Leipzig
- POYNTER, D. (1960):
The arterial lesions produced by *Strongylus vulgaris* and their relationship to the migratory route of the parasite in its host.
Res. vet. Sci. 1, 205 - 217
- derselbe (1969):
Some Observations on the Nematode Parasites of Horses.
in: Proc. 2nd. int. Conf. Equine Infect. Diseases. Paris, 269 - 289
Karger-Verlag, Basel
- REYNOLDS, E.S. (1963):
The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy.
J. Cell Biol. 17, 208 - 212
- RIS, H. (1924):
Untersuchungen über Erkrankungen des arteriellen Gefäßsystems des Pferdes.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 46, 1 - 47
- ROMANOV, N. (1929):
Zur Frage von der Verknöcherung der Arterien bei Pferden.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 37, 740 - 743

- ROMBOLI, B., G. BRACA, N. PELLEGRINI, M. ARISPICI und D. ALOIA (1975):
Arterite virale equina (EVA). Contributo alla conoscenza delle vasculo-
patie del cavallo. *Ann. Fac. Med. Vet. Pisa* **28**, 99 - 115.
- ROMEIS, B. (1968):
Mikroskopische Technik.
Oldenbourg-Verlag, München
- ROSS, R. und J.A. GLOMSET (1973):
Atherosclerosis and the Arterial Smooth Muscle Cell.
Science **180**, 1332 - 1339
- ROTTER, W. (1978):
Vorläufer und frühe Stadien der Atherosklerose und ihre Pathogenese.
Med. Welt **29**, 1111 - 1114
- ROUND, M.C. (1970):
The Development of Strongylus in Horses and the Associated Serum Protein
Changes.
Proc. 2nd. int. Conf. Equine Infect. Diseases, Paris, 290 - 303
Karger-Verlag, Basel
- SCHAUB, R.G. und C.A. RAWLINGS (1980):
Pulmonary vascular response during phases of canine heartworm disease:
Scanning electron microscopic study.
Am. J. vet. Res. **41**, 1082 - 1089
- SCHULZ, L.-C1. (1980):
Zwei-Phasenkonzept der Rheumatoiden Entzündung.
Enke-Verlag, Stuttgart
- SCHULZ, L.-C1., H. EHARD, B. HERTRAMPF, R. DÖHRING und A.E.L.H. BAYOUMI
(1980):
Thrombotic Arteriopathy in Rheumatoid Erysipelas-Polyarthrits.
Path. Res. Pract. **169**, 29 - 57
- SKALINSKIJ, E.I. (1957):
Toxic action of larval of *Delafondia vulgaris* on horses. (In Russ.)
*Trudy Gosudarstvennogo Nanchno-Kontrolnogo Instituta Veterinarynskikh
Preparatov*, **7**, 318 - 327
zit. nach OGBOURNE, C.P. und J.L. DUNCAN (1977):

- SLOCOMBE, J.O.D., V.T. RENDANO, R. ap R. OWEN, P.W. PENNOCK und B.M. McCRAW (1977):
Arteriography in ponies with *Strongylus vulgaris* arteritis.
Can. J. comp. Med. 41, 137 - 145
- SMITH, A. und S. BRUTON (1979):
Färbatlas histologischer Färbemethoden.
Schattauer - Verlag, Stuttgart
- STAUBESAND, J. und N. FISCHER (1979):
Collagen dysplasia and matrix vesicles. Researches with the Electron
Microscope into the problem of so-called "Weakness of the Vessel Wall".
Path. Res. Pract. 165, 374 - 391
- SUTOH, M., Y. SAHEKI, R. ISHITANI, S. INUI, M. NARITA, H. HAMAZAKI
und T. YOKOTA (1976):
Occurrence and pathology of a disease of foals caused by larval migration
of *Strongylus vulgaris*.
Exp. Rep. Equine Hilth Lab. 13, 60 - 78
- TRILLO, A.A. (1981):
Formation of "Ghost" Bodies and calcification in experimental athero-
sclerosis in nonhuman primates. An ultrastructural study.
Virch. Arch. B 38, 127 - 139
- TRILLO, A.A. und R.W. PRICHARD (1979):
Early endothelial changes in experimental primate atherosclerosis.
Lab. Invest. 41, 294 - 302
- VELTMAN, E., K.P. BACKWINKEL, H. THEMANN und W.H. HAUSS (1975):
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Entstehung von "ghost bodies"
in Aorten.
Virch. Arch. B Pathol. Anat. 367, 281 - 288
- Virchow, R. (1855):
Kalkmetastasen.
Virch. Arch. Pathol. 8, 103 - 113
- WOLINSKY, H. (1973):
Mesenchymal response of the blood vessel wall.
Circ. Res. 32, 543 - 548

Herrn Professor Dr. DDr. h.c. L.-Cl. Schulz danke ich, daß ich die vorliegende Dissertation im Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover anfertigen durfte, sowie für die Überlassung des Themas und die gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. M. Rosenbruch für die anregende Betreuung der Arbeit und die jederzeit freundliche Hilfe.

Herrn Prof. Dr. W. Drommer möchte ich für die bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung gewährte Unterstützung danken.

Ferner sei an dieser Stelle Herrn Dr. R. Steitzer (Botanisches Institut) für die Durchführung der Energie-Dispersiven-Röntgenmikroanalyse besonders gedankt.

Weiterhin möchte ich Frau A. B. Collatz, Frau Dr. A. Ebrecht, Herrn Dr. H.H. Fiedler, Herrn Prof. Dr. E. Deegen, Herrn Prof. Dr. G. Trautwein und Herrn F.J. Kaup für ihre freundliche Hilfsbereitschaft während der Anfertigung der Arbeit danken.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen des Diagnoselabors, Frau G. Koch, Frau B. Lehmann, Frau D. Kurth sowie Frau K. Franke und Frau M. Wallmann aus der Arbeitsgruppe für Elektronenmikroskopie und den Mitarbeitern des Photolabors, Frau Chr. Birkholz, Herrn H. Thöneböen und Herrn G. Jensch, sei für die technische Unterstützung herzlich gedankt.

Ebenso bedanke ich mich bei allen Angehörigen des Institutes für Pathologie für die freundliche Unterstützung und ihre stete Hilfsbereitschaft.