

# Histologische und immunzytochemische Studien zur Pathogenese des Lipödems

Andreas Johannes Habenbacher

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Medicine and Health der Technischen  
Universität München zur Erlangung eines  
Doktors der Medizin (Dr. med.)  
genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Florian Eyer

Prüfende der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Laszlo Kovacs-Hintz
2. Priv.-Doz. Dr. Philipp Moog

Die Dissertation wurde am 26.09.2024 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die TUM School of Medicine and Health am 05.02.2025  
angenommen.

# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, um mich aufrichtig bei allen Personen zu bedanken, die mich bei dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Laszlo Kovacs, der die organisatorische Leitung übernommen hat und mir stets unterstützend zur Seite stand. Ebenso möchte ich mich herzlich bei Frau Dr. Anna-Theresa Lipp bedanken. Sie betreute nicht nur meine Doktorarbeit, sondern ermöglichte mir in den vergangenen Jahren auch eine enge und kollegiale Zusammenarbeit mit unzähligen wertvollen Erfahrungen und Einblicken im Bereich der Plastischen Chirurgie.

Auch möchte ich meinem herzlichen Dank an das Forschungsteam der Paris-Lodron-Universität Salzburg rund um PD Dr. Hannelore Bauer, BSc Marianne Fliesser-Steiner und Marie-Annie Weinbach sowie PD Mag. Dr. Herbert Tempfer und PhD Hans-Christian Bauer der Paracelsus Medizinischen Universität Salzburg ausdrücken. Eure herzliche Aufnahme im Team, die produktive Zusammenarbeit und die gewissenhafte Einführung ins wissenschaftliche Arbeiten waren von unschätzbarem Wert. Ohne Eure Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Zum Abschluss möchte ich meiner Familie von ganzem Herzen danken, die es mir ermöglicht hat, mein Studium zu absolvieren und über die Jahre stets unterstützend an meiner Seite stand. Ebenso möchte ich mich bei meiner Freundin und meinen Freunden bedanken, die mich auf diesem Weg begleitet haben und immer ein offenes Ohr für mich hatten.



# Zusammenfassung

## Hintergrund

Das Lipödem ist eine Erkrankung, die fast ausschließlich Frauen betrifft. Alleine in Deutschland wird die Prävalenz in der weiblichen Bevölkerung auf 6-8% geschätzt (Reich-Schupke et al., 2017). Klinisch manifestiert sich das Lipödem typischerweise mit einer disproportionalen Fettverteilung zwischen Körperstamm und Extremitäten aufgrund einer Vermehrung des subkutanen Fettgewebes (Kruppa et al., 2020). Trotz umfangreicher Studien bleiben noch viele Aspekte der Pathologie und Entstehung des Lipödems ungeklärt.

## Methoden

In dieser Studie wurden subkutane Gewebebiopsien und mesenchymale Stromazellen von Lipödempatientinnen auf morphologische und immunzytochemische Merkmale untersucht. Besonderer Fokus dieser Arbeit lag auf der Fibrosierung des subkutanen Fettgewebes als charakteristische Veränderung des Lipödems und die potenzielle Beeinflussung durch das Körpergewicht der Probandinnen. Gewebe- und Zellmorphologie sowie Wachstumsmerkmale und Differenzierungspotenzial wurden durch lichtmikroskopische Analysen und immunhistochemische Färbungen bewertet.

## Ergebnisse

In der histologischen Analyse zeigten die Präparate der Lipödempatientinnen eine deutliche Veränderung der extrazellulären Matrix als Zeichen einer Fibrosierung. Innerhalb der Lipödemgruppe stieg der Grad der Fibrosierung nicht parallel zum Body-Mass-Index (BMI) der Patientinnen an und zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Untergruppen. Jedoch konnte über alle Gewichtsklassen hinweg eine deutliche Variabilität in der Ausprägung der Fibrosierung zwischen den einzelnen Probandinnen beobachtet werden. Immunhistochemisch wurde durch die gesteigerte Integration von alpha-Smooth-Muscle-Actin ( $\alpha$ -SMA) in Stressfasern ein erhöhtes Vorkommen von Myofibroblasten gezeigt. Zudem konnte durch die Beschreibung der Telozyten eine seltene Zellklasse erfasst werden. In der zellmorphologischen Analyse wurden typische Wachstumsmerkmale von mesenchymalen Stammzellen adipöser Spenderinnen wie ein inselförmiges Wachstum und die Bildung von

Zellclustern identifiziert. Die mikroskopische Analyse der in vitro differenzierten Adipozyten zeigte keine positive Korrelation des adipogenen Differenzierungspotentials durch zytoplasmatische Lipidakkumulation mit steigendem BMI der Probandinnen.

### **Schlussfolgerungen**

Die Ergebnisse deuten insgesamt darauf hin, dass die Fibrosierung als Merkmal des Lipödems sowohl bei normal- als auch übergewichtigen und adipösen Patientinnen in unterschiedlichem Ausmaß auftreten kann. Die erhöhte Präsenz von Myofibroblasten legt zudem nahe, dass diese Zellklasse auch beim Lipödem eine bedeutende Rolle in der Entstehung der Fibrosierung des subkutanen Fettgewebes spielen könnte. Zusätzlich wurde durch die Beschreibung der Telozyten eine weitere Zellklasse identifiziert, die selbst zu Myofibroblasten-ähnlichen Zellen differenzieren und an hyperplastischen neurogenen Prozessen beteiligt sein kann (Díaz-Flores et al., 2020). Der genaue Einfluss beider Zelltypen auf die Entstehung des Lipödems und dessen charakteristische Krankheitsmerkmale wie Schmerz, Spannungsgefühl und Fibrosierung sind noch unklar. Weitere Studien sind notwendig, um ein tieferes Verständnis für die pathophysiologischen Zusammenhänge zu erlangen.

# Abstract

## Background

Lipedema is a condition that predominantly affects women. In Germany alone, the prevalence among females is estimated to be between 6-8% (Reich-Schupke et al., 2017). Clinically, lipedema typically presents with unbalanced fat distribution between extremities and the trunk due to an increase in subcutaneous adipose tissue (Kruppa et al., 2020). Despite extensive studies, many aspects of the pathology and development of lipedema remain unresolved.

## Methods

This study examined subcutaneous tissue biopsies and mesenchymal stromal cells from patients with lipedema for morphological and immunocytochemical characteristics. The focus was on the fibrosis of subcutaneous adipose tissue, a characteristic alteration in lipedema, and its potential modulation by the subjects' body weight. Tissue and cell morphology, growth features, and differentiation potential were evaluated through light microscopic analyses and histochemical staining.

## Results

Histological analysis revealed a distinct alteration in the extracellular matrix of samples from patients with lipedema, indicating fibrosis. In the lipedema cohort, the extent of fibrosis did not exhibit a proportional rise corresponding to the Body Mass Index (BMI) of the patients. Additionally, no noteworthy distinctions in fibrosis levels were observed among the various subgroups within the cohort. However, significant variability in the extent of fibrosis was observed across all weight classes among the subjects. Immunohistochemically, increased integration of alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) into stress fibers indicated a higher occurrence of myofibroblasts. Additionally, telocytes, a rare cell class, were identified, suggesting potential involvement in hyperplastic neurogenic processes. The cell morphological analysis identified typical growth characteristics of mesenchymal stem cells from adipose donors, including island-like growth and the formation of cell clusters. Microscopic analysis of in vitro

differentiated adipocytes did not show a positive correlation between adipogenic differentiation potential, indicated by cytoplasmic lipid accumulation, and increasing BMI of the subjects.

## **Conclusions**

Overall, the results suggest that fibrosis can occur to varying degrees in both normal-weight and overweight or obese patients as a characteristic of lipedema. The increased presence of myofibroblasts indicates their potential role in the development of subcutaneous adipose tissue fibrosis in lipedema. Moreover, the description of telocytes identifies another cell class that may differentiate into myofibroblast-like cells and contribute to hyperplastic neurogenic processes (Díaz-Flores et al., 2020). However, the exact influence of both cell types on the development of lipedema and characteristic features such as pain, tension sensation, and fibrosis remains unclear. Further studies are needed to gain a deeper understanding of the pathophysiological connections.

# Inhaltsverzeichnis

|                                                                |           |
|----------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>DANKSAGUNG .....</b>                                        | <b>1</b>  |
| <b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>                                   | <b>2</b>  |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                           | <b>4</b>  |
| <b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>                              | <b>9</b>  |
| <b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>                              | <b>11</b> |
| <b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>                               | <b>13</b> |
| <b>EINLEITUNG.....</b>                                         | <b>14</b> |
| <b>1.1 ERSTBESCHREIBUNG UND DEFINITION DES LIPÖDEMS.....</b>   | <b>14</b> |
| <b>1.2 EPIDEMIOLOGIE.....</b>                                  | <b>15</b> |
| <b>1.3 PATHOGENESE UND PATHOPHYSIOLOGIE .....</b>              | <b>16</b> |
| <b>1.4 HISTOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN .....</b>                   | <b>21</b> |
| <b>1.5 KLINISCHES ERSCHEINUNGSBILD UND KOMORBIDITÄTEN.....</b> | <b>22</b> |
| <b>1.6 DIFFERENTIALDIAGNOSEN.....</b>                          | <b>26</b> |
| 1.6.1 LIPOHYPERTROPHIE .....                                   | 26        |
| 1.6.2 LYMPHÖDEM .....                                          | 26        |
| 1.6.3 PHLEBÖDEM .....                                          | 27        |
| 1.6.4 ADIPOSITAS .....                                         | 27        |
| 1.6.5 ADIPOSITAS DOLOROSA.....                                 | 28        |
| 1.6.6 BENIGNE SYMMETRISCHE LIPOMATOSE .....                    | 29        |
| <b>1.7 DIAGNOSTIK .....</b>                                    | <b>30</b> |
| 1.7.1 KLINISCHE DIAGNOSTIK.....                                | 30        |
| 1.7.2. WEITERFÜHRENDE DIAGNOSTIK .....                         | 31        |
| 1.7.2.1 LABORDIAGNOSTIK .....                                  | 31        |
| 1.7.2.2 STREETEN-PROBE .....                                   | 31        |
| 1.7.2.3 MESSUNG DER DIELEKTRIZITÄTSKONSTANTE.....              | 32        |
| 1.7.2.4 WEITERE APPARATIVE VERFAHREN .....                     | 33        |
| <b>1.8 THERAPIE.....</b>                                       | <b>35</b> |
| 1.8.1 KONSERVATIVE THERAPIE .....                              | 35        |

|                                          |                                                                                |           |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.8.2                                    | OPERATIVE VERFAHREN .....                                                      | 37        |
| 1.9                                      | VASKULÄRE STROMALE FRAKTION UND ADIPÖSE MESENCHYMALE STAMMZELLEN (ADSCs) ..... | 39        |
| 1.10                                     | AKTUELLE ERGEBNISSE AUS IN VIVO-, EX VIVO- UND IN VITRO-STUDIEN .....          | 41        |
| 1.10.1                                   | ADIPOGENESE .....                                                              | 41        |
| 1.10.2                                   | HYPERTROPHIE UND HYPERPLASIE DER ADIPOZYTEN .....                              | 43        |
| 1.10.3                                   | CHRONISCHE INFLAMMATION .....                                                  | 44        |
| 1.10.4                                   | EINFLUSS DER LYMPHE .....                                                      | 45        |
| 1.10.5                                   | VERÄNDERUNG DER ENDOTHELBARRIERE .....                                         | 46        |
| 1.10.6                                   | FIBROSIERUNG UND VERÄNDERUNG DER EXTRAZELLULÄREN MATRIX .....                  | 47        |
| 1.11                                     | WIDERSPRÜCHLICHE ERGEBNISSE AUS DER AKTUELLEN FORSCHUNG .....                  | 49        |
| 1.11.1                                   | LIPÖDEM ALS PROGREDIENTE ERKRANKUNG .....                                      | 49        |
| 1.11.2                                   | ÖDEMBILDUNG UND SCHMERZENTWICKLUNG .....                                       | 49        |
| 1.11.3                                   | EINFLUSS DES GEWICHTS AUF DIE KLINISCHEN BESCHWERDEN .....                     | 49        |
| 1.11.4                                   | LIPOSUKTION UND GANZHEITLICHE THERAPIEVORSCHLÄGE DES LIPÖDEMS .....            | 50        |
| <b><u>ZIELSETZUNG .....</u></b>          |                                                                                | <b>52</b> |
| <b><u>MATERIAL UND METHODIK.....</u></b> |                                                                                | <b>53</b> |
| 3.1                                      | AUFLISTUNG DER VERWENDETEN CHEMIKALIEN, PRODUKTE UND GERÄTE .....              | 53        |
| 3.2                                      | UNTERSUCHUNGSMATERIAL .....                                                    | 56        |
| 3.3                                      | PROBANDINNEN .....                                                             | 56        |
| 3.4                                      | PATIENTINNENKOLLEKTIV UND -CHARAKTERISTIK .....                                | 56        |
| 3.5                                      | PROBENGEWINNUNG .....                                                          | 56        |
| 3.6                                      | ZELLISOLIERUNG .....                                                           | 57        |
| 3.7                                      | ZELLKULTUR.....                                                                | 59        |
| 3.8                                      | PASSAGIEREN .....                                                              | 59        |
| 3.9                                      | KRYOKONSERVIERUNG .....                                                        | 60        |
| 3.10                                     | ZELLMORPHOLOGISCHE ANALYSE.....                                                | 61        |
| 3.11                                     | ADIPOGENE DIFFERENZIERUNG .....                                                | 61        |
| 3.12                                     | ANALYSE DER ADIPOGENEN DIFFERENZIERUNG UND LIPIDBELADUNG.....                  | 61        |
| 3.13                                     | OIL-RED-O-FÄRBUNG .....                                                        | 62        |
| 3.14                                     | GEWEBEHISTOLOGIE .....                                                         | 63        |
| 3.14.1                                   | FIXIERUNG DES GEWEBES.....                                                     | 63        |
| 3.14.2                                   | EINBETTUNG UND SCHNEIDEN .....                                                 | 63        |
| 3.14.3                                   | ENTPARAFFINIERUNG .....                                                        | 64        |

|                                              |                                                                 |                  |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------|
| <b>3.15</b>                                  | <b>LICHTMIKROSKOPISCHE FÄRBUNGEN.....</b>                       | <b>65</b>        |
| 3.15.1                                       | PERIODIC-ACID-SCHIFF-REAKTION NACH McMANUS (PAS-REAKTION) ..... | 65               |
| 3.15.2                                       | HÄMATOXYLIN-EOSIN (HE) - FÄRBUNG NACH MAYER .....               | 66               |
| <b>3.16</b>                                  | <b>IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN .....</b>                      | <b>67</b>        |
| 3.16.1                                       | EINFÜHRUNG UND METHODEN.....                                    | 67               |
| 3.16.2                                       | DURCHFÜHRUNG.....                                               | 68               |
| <b>3.17</b>                                  | <b>MIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN.....</b>                       | <b>70</b>        |
| 3.17.1                                       | LICHTMIKROSKOPIE .....                                          | 70               |
| 3.17.2                                       | POLARISATIONSMIKROSKOPIE.....                                   | 71               |
| 3.17.3                                       | FLUORESCENZMIKROSKOPIE .....                                    | 71               |
| <b>3.18</b>                                  | <b>STATISTISCHE ANALYSE.....</b>                                | <b>72</b>        |
| <b><u>ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....</u></b> |                                                                 | <b><u>73</u></b> |
| <b>4.1</b>                                   | <b>POLARISATIONSMIKROPSKOPIE .....</b>                          | <b>73</b>        |
| 4.1.1                                        | ERGEBNISSE.....                                                 | 73               |
| 4.1.2                                        | DISKUSSION .....                                                | 76               |
| <b>4.2</b>                                   | <b>PAS-FÄRBUNG.....</b>                                         | <b>78</b>        |
| 4.2.1                                        | ERGEBNISSE.....                                                 | 78               |
| 4.2.2                                        | DISKUSSION .....                                                | 81               |
| <b>4.3</b>                                   | <b>IMMUNFLUORESCENZ .....</b>                                   | <b>83</b>        |
| 4.3.1                                        | ERGEBNISSE.....                                                 | 83               |
| 4.3.2                                        | DISKUSSION .....                                                | 87               |
| <b>4.4</b>                                   | <b>ZELLMORPHOLOGISCHE ANALYSE.....</b>                          | <b>90</b>        |
| 4.4.1                                        | ERGEBNISSE.....                                                 | 90               |
| 4.4.2                                        | DISKUSSION .....                                                | 92               |
| <b>4.5</b>                                   | <b>ADIPOGENE DIFFERENZIERUNG UND LIPIDBELADUNG.....</b>         | <b>93</b>        |
| 4.5.1                                        | ERGEBNISSE.....                                                 | 93               |
| 4.5.2                                        | DISKUSSION .....                                                | 94               |
| <b>4.6</b>                                   | <b>LIMITATIONEN DER STUDIE.....</b>                             | <b>95</b>        |
| <b><u>LITERATURVERZEICHNIS.....</u></b>      |                                                                 | <b><u>98</u></b> |

## Abkürzungsverzeichnis

|                                 |                                            |
|---------------------------------|--------------------------------------------|
| ADSCs                           | Adipose Tissue Derived Stem Cells          |
| Aqua dest.                      | Destilliertes Wasser                       |
| BMI                             | Body-Mass-Index                            |
| BSA                             | Bovines Serumalbumin                       |
| CD                              | Cluster of Differentiation                 |
| CT                              | Computertomographie                        |
| CVI                             | Chronisch-venöse Insuffizienz              |
| DAB                             | 3,3'-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid     |
| DAPI                            | 4',6-Diamidin-2-phenylindol                |
| Des                             | Desmin                                     |
| DMEM                            | Dulbecco's Modified Eagle Medium           |
| DNA                             | Desoxyribonukleinsäure                     |
| DXA                             | Dual Energy X-Ray Absorptiometry           |
| EDTA                            | Ethylendiamintetraacetat                   |
| ER $\alpha/\beta$               | Alpha- und Beta-Östrogenrezeptoren         |
| EZM                             | Extrazellulärmatrix                        |
| f-Aktin                         | Filamentöses Aktin                         |
| FABP4                           | Fatty Acid Binding Protein 4               |
| FBS                             | Fötales Rinderserum                        |
| g-Aktin                         | Globuläres Aktin                           |
| HCl                             | Salzsäure                                  |
| HE                              | Hämatoxylin-Eosin                          |
| IBMX                            | 3-Isobutyl-1- Methylxanthin                |
| ICH                             | Immunhistochemie                           |
| IgG                             | Immunglobulin G                            |
| INF $\alpha$                    | Interferon alpha                           |
| KCl                             | Kaliumchlorid                              |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | Kaliumdihydrogenphosphat                   |
| KPE                             | Komplexe physikalische Entstauungstherapie |
| KT                              | Kompressionstherapie                       |
| l                               | Liter                                      |
| LD                              | Lipid Droplet                              |



|                                  |                                                      |
|----------------------------------|------------------------------------------------------|
| MHC I                            | Major Histocompatibility Complex Class I             |
| min                              | Minute                                               |
| ml                               | Milliliter                                           |
| MLD                              | Manuelle Lymphdrainage                               |
| mmol                             | Millimol                                             |
| MRT                              | Magentresonanztomographie                            |
| N <sub>2</sub>                   | Stickstoff                                           |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | Natriumdihydrogenphosphat                            |
| NaCl                             | Natriumchlorid                                       |
| nm                               | Nanometer                                            |
| ORO                              | Oil-Red-O                                            |
| p                                | Passage                                              |
| PAS                              | Periodic-Acid-Schiff                                 |
| PBS                              | Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung                   |
| PFA                              | Paraformaldehyd                                      |
| Phalloidin                       | Pha                                                  |
| PPAR $\gamma$                    | Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor $\gamma$ |
| qPCR                             | Quantitative Polymerase-Kettenreaktion               |
| RGB                              | Rot Grün Blau                                        |
| SVF                              | Stromale vaskuläre Fraktion                          |
| TH1                              | Typ-1-T-Helferzelle                                  |
| TIVA                             | Totale intravenöse Anästhesie                        |
| UAL                              | Ultrasound-assisted Liposuction                      |
| VAL                              | Vibration-assisted Liposuction                       |
| VAR                              | Veno-arterieller Reflex                              |
| VEGF                             | Vascular Endothelial Growth Factor                   |
| VEGF-C                           | Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor C           |
| WAL                              | Water jet-assisted Liposuction                       |
| $\alpha$ -SMA                    | Alpha-Smooth-Muscle-Actin                            |
| $\mu$ g                          | Microgramm                                           |
| $\mu$ m                          | Micrometer                                           |
| $\mu$ mol                        | Micromol                                             |

# Abbildungsverzeichnis

|         |                                                                                                                             |       |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Abb. 1  | Erstbeschreibung einer Lipödempatientin, Originalaufnahme                                                                   | S. 14 |
| Abb. 2  | Potenzieller Einfluss der Östrogenrezeptoren auf das Lipödem                                                                | S. 17 |
| Abb. 3  | Übersicht der Lymph- und Blutgefäße in der Haut                                                                             | S. 20 |
| Abb. 4  | Abbildung kronenartiger Strukturen („crown-like-cells“) im subkutanen Fettgewebe einer Lipödempatientin                     | S. 22 |
| Abb. 5  | Klassifikation des Lipödems nach Stadien und Typen                                                                          | S. 24 |
| Abb. 6  | Häufig auftretende Komorbiditäten des Lipödems                                                                              | S. 25 |
| Abb. 7  | Messung des lokalen Flüssigkeitsgehaltes mittels Dielektrizitätskonstante                                                   | S. 32 |
| Abb. 8  | Diagnostisches Vorgehen bei Patient*innen mit Lipödem-ähnlicher Klinik                                                      | S. 34 |
| Abb. 9  | Auszug der therapeutischen Wirkung von mesenchymalen Stromazellen                                                           | S. 40 |
| Abb. 10 | Exemplarische Aufnahme von Lipid Droplets 21 Tage nach induzierter adipogener Differenzierung                               | S. 42 |
| Abb. 11 | Bestandteile eines ganzheitlichen Therapieansatzes des Lipödems                                                             | S. 51 |
| Abb. 12 | Arbeitsschritte zur Separation der stromalen vaskulären Fraktion und Isolierung der ADSCs aus Lipoaspiraten                 | S. 58 |
| Abb. 13 | Entwicklung undifferenzierter ADSCs zu differenzierten Zellen mit Lipideinlagerung und anschließender Färbung mit Oil-Red-O | S. 62 |
| Abb. 14 | Ablauf der direkten und indirekten Immunfluoreszenz                                                                         | S. 68 |
| Abb. 15 | Exemplarisches Histogramm zur Darstellung der gewichteten Graustufenintensität mit detektiertem Mittelwert                  | S. 71 |
| Abb. 16 | Exemplarische Aufnahmen der Gewebeschnitte einer Lipödempatientin mit deutlich sichtbarer stromaler Kollagendeposition      | S. 74 |
| Abb. 17 | Statistische Auswertung der Polarisationsmikroskopie                                                                        | S. 75 |

|         |                                                                                              |       |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Abb. 18 | Exemplarische Aufnahmen der Gewebeschnitte nach PAS-Färbung zur Darstellung der EZM          | S. 79 |
| Abb. 19 | Statistische Auswertung nach Ermittlung des EZM-Durchmessers in Mikrometern                  | S. 80 |
| Abb. 20 | Fluoreszenzmikroskopische Darstellung repräsentativer Färbungen von undifferenzierten Zellen | S. 83 |
| Abb. 21 | Fluoreszenzmikroskopische Darstellung repräsentativer Färbungen von undifferenzierten Zellen | S. 84 |
| Abb. 22 | Fluoreszenzmikroskopische Darstellung eines Telozyten                                        | S. 85 |
| Abb. 23 | Statistische Auswertung der Immunfluoreszenz mit prozentuellem Anteil positiver Zellen       | S. 86 |
| Abb. 24 | Exemplarische Aufnahmen aus der zellmorphologischen Analyse nach 14 Tagen Kultivierung       | S. 91 |
| Abb. 25 | Exemplarische Aufnahmen des Zelldifferenzierungsstatus einer Lipödempatientin nach 21 Tagen  | S. 93 |

## Tabellenverzeichnis

|         |                                                                                                             |       |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Tab. 1  | Einteilung des Lipödems nach Lokalisation und Stadium                                                       | S. 23 |
| Tab. 2  | Einteilung des Körpergewichts nach BMI                                                                      | S. 28 |
| Tab. 3  | Klinische Merkmale wichtiger Differentialdiagnosen                                                          | S. 29 |
| Tab. 4  | Therapieoptionen des Lipödems und Behandlungsziele                                                          | S. 38 |
| Tab. 5  | Adipogenese-bezogene Gene und ihre Funktion                                                                 | S. 43 |
| Tab. 6  | Funktion beschriebener Zellzyklusregulatoren mit gesteigerter Expression                                    | S. 44 |
| Tab. 7  | Bisher beschriebene Zytokine, Syntheseort und Funktion                                                      | S. 45 |
| Tab. 8  | Liste der verwendeten Chemikalien                                                                           | S. 53 |
| Tab. 9  | Liste der verwendeten Geräte und Produkte                                                                   | S. 55 |
| Tab. 10 | Arbeitsschritte der Oil-Red-O-Färbung                                                                       | S. 62 |
| Tab. 11 | Prozessierungsschritte des Einbettungsautomaten                                                             | S. 63 |
| Tab. 12 | Arbeitsschritte der PAS-Reaktion                                                                            | S. 65 |
| Tab. 13 | Arbeitsschritte der HE-Färbung                                                                              | S. 66 |
| Tab. 14 | Auflistung verwendeter primärer und sekundärer Antikörper in der Immunfluoreszenz                           | S. 79 |
| Tab. 15 | Arbeitsschritte der immunhistochemischen Färbung                                                            | S. 70 |
| Tab. 16 | Auflistung der Lipödempatientinnen mit BMI, Anzahl an positiven Zellen und Gesamtanzahl ausgezählter Zellen | S. 86 |

# Einleitung

## 1.1 Erstbeschreibung und Definition des Lipödems

Der Begriff „Lipödem“ erschien in der Fachliteratur zum ersten Mal im Jahre 1940. Damals beschrieben Allen und Hines eine Erkrankung der unteren Extremität, die mit orthostatischer Ödembildung und vermehrten subkutanen Fetteinlagerungen einhergeht (Allen & Hines, 1940). In einer nachfolgenden Publikation von 1951 erweiterten Wold et al. die charakteristischen Merkmale des Lipödems als eine Erkrankung mit fetteingelagerten Schwellungen der Beine und der Hüfte, die mit dem Finger nicht wegdrückbar sind und beidseits symmetrisch auftreten (Wold, Hines, & Allen, 1951).



Abb. 1: Erstbeschreibung einer Lipödempatientin, Originalaufnahme (Wold, Hines, & Allen, 1951), Fig. 1

Aktuell definiert die einzige deutsche S1-Leitlinie vom Stand 10/2015 das Lipödem als chronische und progredient verlaufende Erkrankung (Reich-Schupke et al., 2017). Durch eine lokalisierte und symmetrisch ausgeprägte Vermehrung des subkutanen Fettgewebes kommt es zwischen Körperstamm und Extremitäten zu einer disproportionalen Fettverteilung. Zu den weiteren Hauptcharakteristika zählen neben der gesteigerten Druckschmerzhaftigkeit

auch häufig auftretende Spontanschmerzen in den betroffenen Extremitäten, eine bereits nach Bagatelltraumata auftretende Hämatomneigung und die im Tagesverlauf progredient verlaufende Ödembildung (Reich-Schupke et al., 2017; Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007).

## 1.2 Epidemiologie

Das Lipödem ist eine Erkrankung, die fast ausschließlich Frauen betrifft. Männliche Fallbeispiele werden in der Fachliteratur nur sehr selten beschrieben. Häufig handelt es sich hierbei um sekundär bedingte, klinische Veränderungen im Sinne eines Lipödems durch eine Dysregulation des Hormonstoffwechsels. Im weiteren Verlauf kommt es zu Veränderungen des Östrogen- und Testosteronhaushalts. Beispiele hierfür sind hepatische Erkrankungen (z.B. Leberzirrhose), schwere endokrine Störungen (z.B. Hypogonadismus) oder hormonell wirksame Therapien. (Child et al., 2010; Pereira de Godoy, Guerreiro Godoy, & Pereira de Godoy, 2022)

Bezüglich der Erstmanifestation werden in der Fachliteratur unterschiedliche Angaben verbreitet. Wold et al. gingen 1951 von einer gleichmäßigen Verteilung des Erkrankungsbeginns über die Lebensdekaden aus (Wold, Hines, & Allen, 1951). Herpertz beschrieb 2004 in einer Studie mit 100 befragten Patientinnen einen Peak der Erstmanifestation zwischen dem 30. bis 40. Lebensjahr (Herpertz, 2004). Meist wird der Krankheitsbeginn zu Beginn oder im Verlauf hormoneller Veränderungen (Schwangerschaften, Pubertät, Klimakterium) beschrieben (Child et al., 2010; Herbst, 2012; Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007).

Die Datenlage zur Prävalenz des Lipödems zeigt sich sehr heterogen. Insgesamt schätzt man die Prävalenz der weiblichen Bevölkerung in Deutschland auf 6-8% (Reich-Schupke et al., 2017) und weltweit auf bis zu 11% (Földi & Földi, 2006; Wiedner, Aghajanzadeh, & Richter, 2018). Zudem geht man aufgrund fehlender objektiver und klarer Diagnosekriterien von einer hohen Dunkelziffer aus (Reich-Schupke et al., 2017). Die statistischen Angaben zur Prävalenz sollten wegen der erschwerten Diagnosestellung und potenzieller Fehldiagnosen allerdings kritisch betrachtet werden (Ernst et al., 2022).

### 1.3 Pathogenese und Pathophysiologie

Die genaue Pathogenese und Pathophysiologie des Lipödems ist bisher noch nicht hinreichend erklärt. Zur Entstehung und zum Ablauf der Krankheit gibt es unterschiedliche Theorien, die im Folgenden erläutert werden sollen.

Die Geschlechterverteilung und der häufig beschriebene Zeitpunkt der Erstmanifestation rund um Pubertät, Menarche und Menopause legen eine Beteiligung hormoneller Faktoren nahe (Herbst, 2012). Es kann von einer östrogenregulierten, polygenetischen Störung ausgegangen werden, zu der zahlreiche Hypothesen existieren (Szél et al., 2014).

Zum einen wird ein verändertes Verteilungsmuster der alpha- und beta-Östrogenrezeptoren (ER  $\alpha/\beta$ ) im weißen Fettgewebe beschrieben (Wiedner, Aghajanzadeh, & Richter, 2018). Studien haben gezeigt, dass es bei Lipödempatientinnen im Bereich der Hüften und Beine zu einer gesteigerten Expression von  $\beta$ - und einer verminderten Expression von  $\alpha$ -Östrogenrezeptoren kommt (Szél et al., 2014). Im Bereich des Abdomens verhält sich die Rezeptorverteilung gegensächlich (ER  $\alpha \uparrow$ , ER  $\beta \downarrow$ ) (Szél et al., 2014). Die unterschiedliche Expression von Hormonrezeptoren könnte einen Einfluss auf die Lipolyse und Lipogenese in den betroffenen Körperregionen haben. Dies kann zu einer gesteigerten Lipolyse im abdominellen Bereich verglichen zur unproportional erhöhten Lipogenese an Hüften, Gesäß und den Beinen und damit zum klassischen Fettverteilungsmuster des Lipödems beitragen (Wiedner, Aghajanzadeh, & Richter, 2018).

Weiters geht man davon aus, dass es auch zentral zu einer unterschiedlichen Hormonrezeptorexpression der ER  $\alpha/\beta$  im Bereich des Hypothalamus kommt (Szél et al., 2014). Die Auswirkungen auf Gewichtskontrolle und das Appetit- und Sättigungsgefühl könnten unter Umständen auch zur Diätresistenz von lipödematösem Fettgewebe beitragen (Wiedner, Aghajanzadeh, & Richter, 2018).

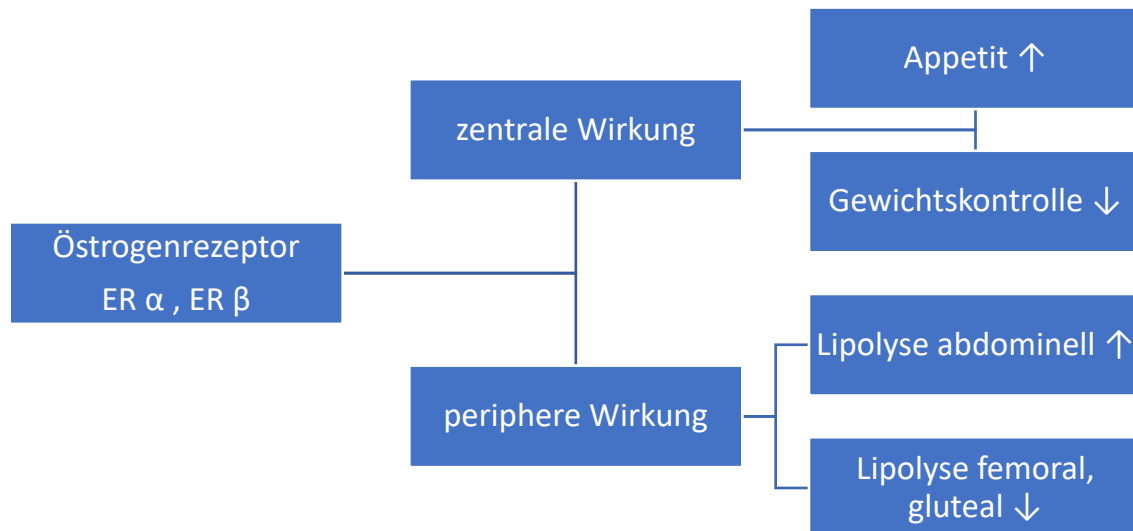


Abb. 2: Potenzieller Einfluss der Östrogenrezeptoren auf das Lipödem. Auf Basis von (Wiedner, Aghajanzadeh, & Richter, 2018), Abb. 5

Eine genetische Prädisposition kann einen Einfluss auf die Erkrankung haben, da teilweise auch mehrere weibliche Mitglieder einer Familie betroffen sind. Bisher durchgeführte Studien zur Untersuchung der familiären Häufung lieferten allerdings Zahlenwerte, die mit 16-73% Prozent weit auseinanderliegen (Ghods et al., 2020; Greer, 1974; Harwood et al., 1996; Wold, Hines, & Allen, 1951). Child et al. gingen aufgrund ihrer Studienergebnisse mit 330 eingeschlossenen Familienmitgliedern am ehesten von einem autosomal-dominanten Erbgang mit inkompletter Penetranz, alternativ von einem X-chromosomal-dominanten Erbgang aus (Child et al., 2010).

Unklar ist, welche Rolle Adipokine, von Fettzellen freigesetzte Signalmoleküle, in der Pathogenese des Lipödems spielen. Einerseits ist die Adipositas die häufigste Komorbidität der Lipödempatientinnen. Andererseits treten im weiteren Krankheitsverlauf weder die typischen Folgeschäden der Adipositas wie kardiovaskuläre Erkrankungen, Insulinresistenz oder Dyslipidämie auf, noch sprechen die Adipozyten auf gesteigerte körperliche Aktivität oder streng eingehaltene Diäten an (Ghods et al., 2020; Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007). Dies lässt schlussfolgern, dass es sich im Rahmen des Lipödems eventuell um Adipozyten mit einem veränderten Rezeptorspektrum handeln könnte (Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007).



Ebenso unklar ist bisher, in welcher Weise Mikrozirkulationsstörungen auf Kapillarebene durch erhöhte Kapillarfragilität und -permeabilität und damit einhergehende Veränderungen der Nährstoff- und Sauerstoffversorgung die Pathogenese des Lipödems beeinflussen (Kaiserling, 2005). Bisher kann noch nicht gesagt werden, ob es sich hierbei um Merkmale des Lipödems oder um sekundär entstandene Phänomene handelt (Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007). Siems et al. zeigten in einer Studie von 2005 bei Patientinnen mit Lipödem und Zellulitis erhöhte Plasmaspiegel von Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), einem zentralen Wachstumsfaktor im Rahmen der Angiogenese (Siems et al., 2005). Zudem konnten erhöhte Werte von Carbonylproteinen beobachtet werden, die als Biomarker für oxidativen Stress dienen (Siems et al., 2005). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die erhöhte Kapillarfragilität das Resultat einer pathologischen Angiogenese ist und entzündliche Prozesse im lipödematösen Gewebe zu oxidativem Stress mit Lipidperoxidation und damit zu einem beschleunigten Lipidabbau führen (Fife, Maus, & Carter, 2010).

Pathophysiologisch kommt es zu einem Zusammenspiel mehrerer Faktoren. Zum einen verlieren Haut und Faszien an Elastizität (Jagtman, Kuiper, & Brakkee, 1984). Dadurch nimmt die Funktion der muskulären Venenpumpe ab und in Folge kommt es zur venösen Stauung. Die charakteristisch auftretende Hämatomneigung wird vermutlich durch eine verstärkte Kapillarfragilität bedingt (Meier-Vollrath, Schneider, & Schmeller, 2005; Szolnoky et al., 2017). Zudem führt eine erhöhte Kapillarpermeabilität und ein verminderter oder fehlender veno-arterieller Reflex (VAR) zu einem gesteigerten Flüssigkeitsaustritt (proteinreiches Sekret und Blut) ins interstitielle Gewebe (Kruppa et al., 2020). Der VAR schützt das Kapillarbett durch Vasokonstriktion in den vorgeschalteten Arteriolen vor einem Anstieg des hydrostatischen Drucks und damit verbundenem Protein- und Flüssigkeitsaustritt ins Interstitium (Wiedner, Aghajanzadeh, & Richter, 2018). Durch venöse Stauung, erhöhte Kapillarpermeabilität und verminderter präkapillärer Vasokonstriktion kommt es zur orthostatisch progredienten Ödembildung (Herbst, 2012; Kruppa et al., 2020).

Es wurde lange davon ausgegangen, dass es durch den ödembedingten, erhöhten interstitiellen Druck sekundär zu mechanischen Abflussbehinderungen

von Lymphkapillaren, Präkollektoren und Kollektoren kommt (Abb. 3) (Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007). Entgegen früheren Meinungen zeigt sich primär jedoch eine gesteigerte Compliance des Lymphsystems, um den Flüssigkeitsaustritt zu kompensieren und Ödemen entgegenzuwirken (Kruppa et al., 2020). Bei weiterem Fortschreiten der Erkrankung können sich Mikroaneurysmata in den subkutanen und kutanen Lymphbahnen bilden, die teilweise rupturieren und zu einer Insuffizienz des lymphatischen Systems führen (Amann-Vesti, Franzeck, & Bollinger, 2001). Zusätzlich kommt es in der Phase der Lymphleckage zu einer gesteigerten Hyperplasie und Hypertrophie der Adipozyten (Geest et al., 2003; Schneider, Conway, & Carmeliet, 2005) und dadurch zu weiteren Veränderungen der Gewebestruktur und der lymphatischen Architektur. Aktuell ist noch unklar, ob es sich bei der adipozytären Veränderung um eine Hyperplasie (Zunahme der Zellzahl), eine Hypertrophie (Zunahme des Zellvolumens) oder eventuell um eine Kombination handelt (Meier-Vollrath, Schneider, & Schmeller, 2005). Daraus resultierend kommt es jedoch zu einer gesteigerten venösen Stauung und progredienten Ödembildung, welche den hydrostatischen Druck im umliegenden Gewebe erhöhen und Schmerzen verursachen können (Greer, 1974). Zudem könnten weitere Faktoren wie Veränderungen des autonomen Nervensystems (abnorme sympathische Innervation) und neurogene Inflammation im subkutanen Fettgewebe einen Einfluss auf die Schmerzentstehung haben (Szél et al., 2014).

Die Dekompensation des lymphatischen Systems tritt meist erst im späteren Krankheitsverlauf auf, wenn die Funktionsreserven jahrelang überschritten werden (Meier-Vollrath, Schneider, & Schmeller, 2005). Durch den anhaltenden Flüssigkeitsaustritt und die damit verbundene Proteinanreicherung im Interstitium kommt es zu abakteriellen Entzündungen mit Fibrosierung und Sklerosierung des umliegenden Gewebes (Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007). Die Transportkapazität wird durch die Veränderungen an Lymphkollektoren reduziert. In Folge tritt das sekundäre Lymphödem auf (Meier-Vollrath, Schneider, & Schmeller, 2005).

Die Entstehung eines Lipolymphödems beruht auf lymphatischen Veränderungen, die in jedem Stadium der Erkrankung rasch oder langsam verlaufend auftreten können (Herbst, 2012). Hierbei kommt es zum Verschluss

mikrolymphatischer Gefäße (Bollinger, 1993), die im weiteren Verlauf zu Abflussbehinderungen und dynamischen Veränderungen führen (Herpertz, 1995). Die lymphatische Insuffizienz und der erhöhte hydrostatische Druck im umliegenden Gewebe führen im Anschluss zur Entstehung eines Lipolympödems (Partsch et al., 1988).

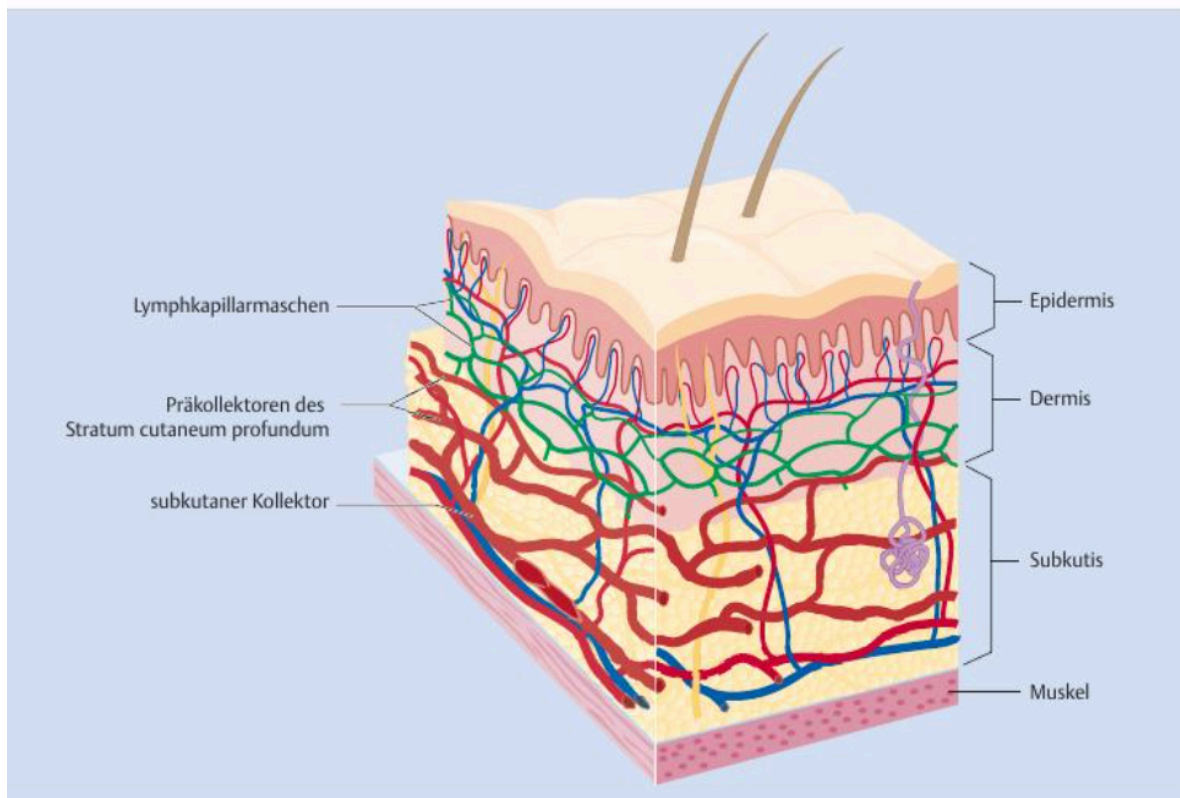


Abb. 3: Übersicht der Lymph- und Blutgefäße in der Haut; (Blum, 2020), S.797, Abb. 21.1

## 1.4 Histologische Veränderungen

Die bisher beschriebenen histologischen Veränderungen des Lipödems sind nicht kennzeichnend für die Erkrankung und können den im Rahmen einer Zellulitis erhobenen Befunden ähneln (Herbst, 2012; Reich-Schupke et al., 2017). Zudem kann die Histologie des lipödematösen subkutanen Fettgewebes auch unverändert bleiben (Stallworth et al., 1974).

Typischerweise zeigt sich beim Lipödem histologisch ein erhöhtes interstitielles Vorkommen von kapillären Blutgefäßen und Venolen mit perivaskulär liegenden Zellen wie Makrophagen, Mastzellen und Fibroblasten (Curri & Merlen, 1986; Merlen, Curri, & Sarteel, 1979). Zudem kommt es zu einer Dilatation der subdermalen Kapillaren, einer Fibrosierung der Arteriolen und einer Dilatation und Fibrosierung der Venolen (Curri & Merlen, 1986; Merlen, Curri, & Sarteel, 1979; Warren Peled & Kappos, 2016).

Die Adipozyten liegen in erhöhter Anzahl vor und sind teils hypertroph, vereinzelt treten Fettgewebsnekrosen auf (Curri & Merlen, 1986; Földi & Földi, 2006; Merlen, Curri, & Sarteel, 1979). Bei weiterem Fortschreiten der Erkrankung nimmt die Fibrosierung des Gewebes im Spätstadium zu (Kaiserling, 2005).

In der Immunhistochemie werden sowohl degenerative als auch regenerative Veränderungen beschrieben, welche die These einer erhöhten Adipogenese im lipödematösen Gewebe unterstützen (Suga et al., 2009). Zum einen kommt es zu einer Proliferation von Fettgewebe-assoziierten Stamm-, Progenitor- und Bindegewebszellen (Ki67- und CD34-positiv), zum anderen zeigen sich große Cluster infiltrierender Makrophagen (CD68-positiv), die nekrotische Adipozyten umgeben und dadurch kronenartige Strukturen („crown-like-cells“) bilden (Abb. 4) (Cinti et al., 2005). Die „crown-like-cells“ werden häufig mit dem Lipödem in Verbindung gebracht, werden vor allem aber der Adipositas zugeschrieben und gelten hier als pathologisches histologisches Kennzeichen (Ernst et al., 2022; Geng et al., 2021). Somit ist es unklar, ob es sich hierbei um ein Merkmal des Lipödems oder der Adipositas handelt.

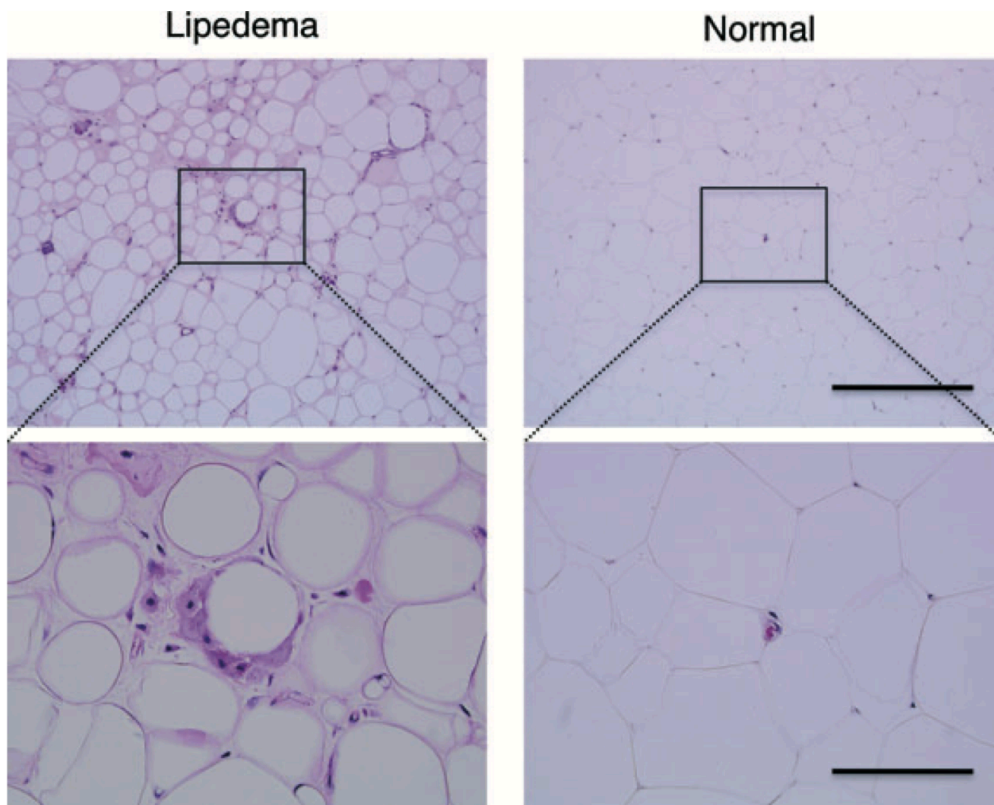


Abb. 4: Abbildung kronenartiger Strukturen („crown-like-cells“) durch infiltrierende Makrophagen im subkutanen Fettgewebe einer Lipödempatientin nach HE-Färbung; Skalierungsbalken 400  $\mu$ m (obere Bilder) bzw. 100  $\mu$ m (untere Bilder); (Suga et al., 2009), Fig. 2

## 1.5 Klinisches Erscheinungsbild und Komorbiditäten

Die in Kapitel 1.1 beschriebenen Veränderungen des Lipödems manifestieren sich stets symmetrisch an den betroffenen Extremitäten mit typischem Kalibersprung („Kragenbildung“) zur nicht vom Lipödem betroffenen Körperregion (Reich-Schupke et al., 2017). Die Vermehrung des subkutanen Fettgewebes kann sich homogen über die betroffenen Extremitäten ausbreiten—die Hände und Füße sind dabei nicht betroffen (Wiedner, Aghajanzadeh, & Richter, 2018). Die Beine sind bei 97% der Patientinnen mitbeteiligt, ein solitäres Lipödem zeigt sich in 66% der Fälle an den Beinen und nur zu 3% an den Armen (Herpertz, 2004). Die konventionellen klinischen Einteilungsmöglichkeiten richten sich nach Lokalisation und Morphologie, wie in Tabelle 1 gezeigt. Die Stadieneinteilung korreliert dabei nicht zwangsläufig mit der klinischen Symptomatik (Reich-Schupke et al., 2017). Mischbilder der einzelnen Untertypen können auftreten.

Tab. 1: A: Klassische Einteilung des Lipödems nach Lokalisation; B: Modifizierte Einteilung des Lipödems nach Lokalisation (mod. nach Herpertz 2014); C: Stadieneinteilung des Lipödems. Auf Basis von (Schmeller, W. & I. Meier-Vollrath, 2007), Tab. 2 und (Reich-Schupke et al., 2017), Tab. 1

#### **A**

---

|       |                                     |
|-------|-------------------------------------|
| Typ 1 | Hüfte                               |
| Typ 2 | Hüften und Oberschenkel             |
| Typ 3 | Hüften, Oberschenkel, Unterschenkel |
| Typ 4 | Arme                                |
| Typ 5 | Unterschenkel                       |

#### **B**

---

|             |                  |
|-------------|------------------|
| <i>Arme</i> | <i>Beine</i>     |
| Oberarmtyp  | Oberschenkeltyp  |
| Ganzarmtyp  | Ganzbeintyp      |
| Unterarmtyp | Unterschenkeltyp |

#### **C**

---

|           |                                                                                                                                                                        |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Stadium 1 | Haut glatt; Subkutis homogen verdickt; kleine Knötchen                                                                                                                 |
| Stadium 2 | Haut uneben; Subkutis inhomogen verdickt; größere Knötchen                                                                                                             |
| Stadium 3 | Ausgeprägte Umfangvermehrung mit wammenartigen, deformierenden Fettlappen an Innenseite von Oberschenkel und Knie; Subkutis stark verdickt und induriert; große Knoten |



Abb. 5: Klassifikation des Lipödems nach Stadien und Typen; (Kruppa et al., 2020), Fig.1

Im weiteren Krankheitsverlauf kann es durch Reibung und Einschnürungen in Gelenksbereichen zu Hautreizungen, oberflächlichen Scheuerwunden (Intertrigo), Aufweichung des Gewebes (Mazeration) und Infektionen kommen. Zudem entwickeln sich häufig überwiegend an Oberschenkel- und Knieinnenseiten wulstartige Tumore (Wammen). Diese können in ausgeprägten Stadien auch zu orthopädischen Komplikationen wie Gangbildstörungen, Achsfehlstellungen der Gelenke und Arthrosen führen. (Stutz & Krahl, 2009)

In jedem Erkrankungsstadium kann sich ein sekundäres Lymphödem sowohl zügig als auch langsam progredient entwickeln (Herbst, 2012). Es wird angenommen, dass neben einer Reihe von Faktoren eine zusätzlich bestehende Adipositas den Krankheitsverlauf negativ beeinflussen kann (Fife, Maus, & Carter, 2010).



Insgesamt können die Patientinnen unter anderem durch das auftretende Spannungsgefühl in den betroffenen Extremitäten stark in ihrer Lebensqualität eingeschränkt sein. Dieses verläuft im Tagesverlauf sowie nach langem Stehen oder Sitzen progredient und tritt gemeinsam mit gesteigertem Druck- und Berührungsschmerz auf (Reich-Schupke et al., 2017). In einer von Gensior et al. durchgeführten Studie mit 640 eingeschlossenen Patientinnen gaben 90% an, täglich unter Schmerzen zu leiden und sich dadurch im Alltag stark eingeschränkt zu fühlen (Gensior, 2019). In 3% der Fälle führte die Erkrankung aufgrund der Beschwerden sogar zu einer Arbeitsunfähigkeit (Gensior, 2019).

Häufige Komorbiditäten des Lipödems wurden in einer 10 Jahre umfassenden retrospektiven Studie von Ghods et al. erfasst, in der insgesamt 147 Patientinnen eingeschlossen wurden. 88% der Patientinnen wiesen mindestens eine weitere Begleiterkrankung auf. Insgesamt zeigten sich deutliche Unterschiede innerhalb des untersuchten Kollektivs durch Faktoren wie Patientinnenalter, Erkrankungsdauer und Stadieneinteilung (siehe Abb. 6). Auffallend war zudem die niedrige Prävalenz von Diabetes mellitus Typ 2 (4,7 %) und Dyslipidämie (6,6 %) trotz des hohen Anteils an Adipositas (37,6%). (Ghods et al., 2020)

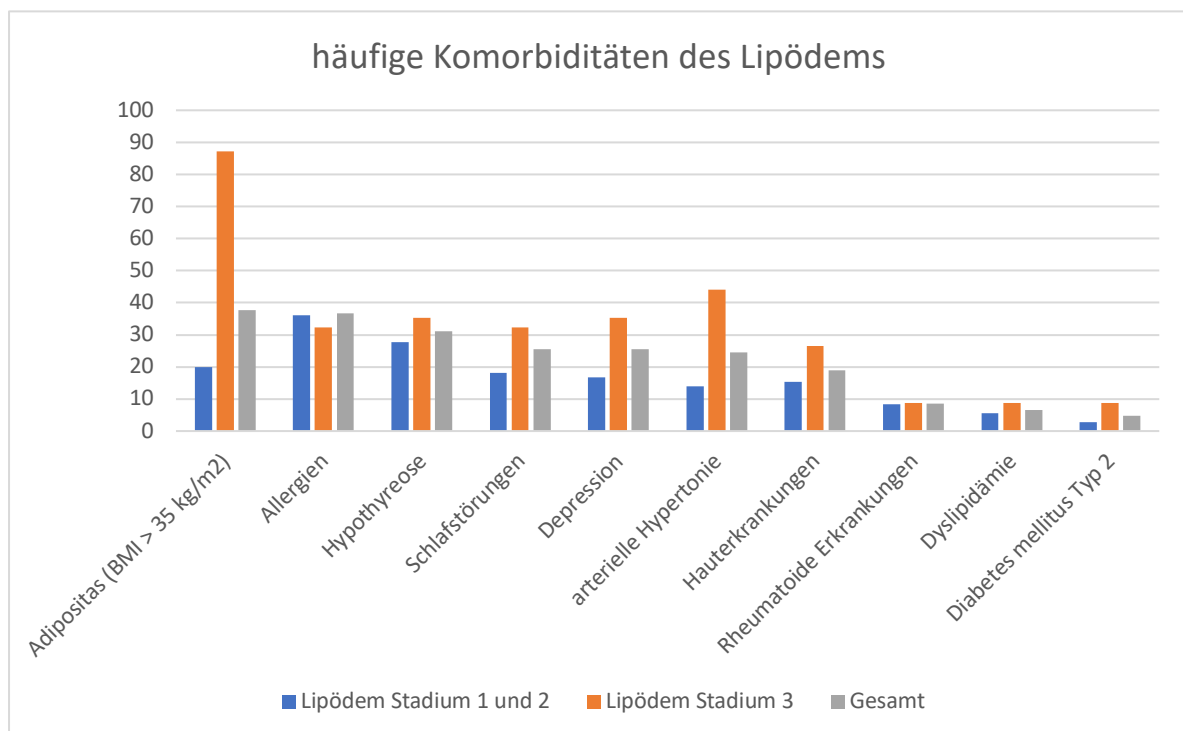


Abb. 6: Häufig auftretende Komorbiditäten des Lipödems. Auf Basis von (Ghods et al., 2020), Fig.



## 1.6 Differentialdiagnosen

### 1.6.1 Lipohypertrophie

Die Lipohypertrophie weist einige Ähnlichkeiten zum Lipödem mit Vermehrung des subkutanen Fettgewebes auf. Die Lipohypertrophie betrifft häufig Frauen, beginnt meist mit dem Start der Pubertät und bedingt in der Regel ein ähnlich disproportionalen Körperschema wie das Lipödem. Ein Befall der Arme ist selten, häufig zeigt sich ein schlanker Rumpf mit vermehrtem Fettgewebe im Hüft- und Gesäßbereich (Reithosenadipositas). Im Gegensatz zum Lipödem entwickeln Lipohypertrophiepatientinnen jedoch keine Ödeme und leiden nicht unter den typischen Druck- und Spannungsschmerzen (Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007). Es wurden einige Fälle beschrieben, in denen die Lipohypertrophie im weiteren Krankheitsverlauf in ein Lipödem übergegangen ist (Herpertz, 2014). Bisher ist unklar, welche Faktoren den Übergang der Lipohypertrophie zum Lipödem beeinflussen. (Herpertz, 2014)

### 1.6.2 Lymphödem

Im Rahmen des primären oder sekundären Lymphödems kommt es aufgrund einer lymphatischen Dysfunktion zur lokalisierten Schwellung. Das primäre Lymphödem entsteht durch angeborene Veränderungen der Lymphgefäße wie Hypoplasie, Hyperplasie oder Obstruktion, die einen physiologischen Lymphabfluss nicht ermöglichen. Es kann durch das kongenitale Lymphödem (Manifestation nach der Geburt), das Lymphoedema praecox (Manifestation in der Pubertät) und das Lymphoedema tarda (Manifestation nach dem 35. Lebensjahr) klinisch in 3 Subtypen unterteilt werden (Connell et al., 2013). Ein sekundäres Lymphödem entsteht durch Obstruktion oder Schädigung der Lymphbahnen, beispielsweise im Rahmen von Infektionen, Traumata oder Operationen. Das Lymphödem kann sich entweder einseitig oder asymmetrisch beidseits manifestieren. Das Ausbreitungsmuster ist hierbei gegensätzlich zu dem des Lipödems und verläuft in der Regel von distal (Fuß, Unterschenkel) nach proximal (Oberschenkel). Die Ödeme sind zu Beginn weich und eindrückbar. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer gesteigerten Einlagerung von Binde- und Fettgewebe. In der klinischen Untersuchung zeigt sich durch die Fußbeteiligung häufig ein positives Stemmer-Zeichen, bei welchem die Haut an der Zehenbasis

aufgrund der Hautverdickung nicht mehr abgehoben werden kann. Druckschmerzhaftigkeit, Spannungsschmerz und Hämatomneigung sind keine klinischen Merkmale des primären Lymphödems. Eine Kombination mit einem Lipödem ist möglich (Lympholipödem). (*Lymphödem*, 2024; Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007)

### 1.6.3 Phlebödem

Das Phlebödem entsteht im Rahmen einer chronisch-venösen Insuffizienz (CVI). Die CVI ist eine Erkrankung der Beinvenen, bei der es durch einen erhöhten Druck im venösen System zu Abflussbehinderungen, trophischen Veränderungen und Mikrozirkulationsstörungen kommt. Das Phlebödem tritt einseitig oder beidseits sowohl bei Männern als auch bei Frauen auf. Es gilt als klinische Frühmanifestation einer CVI und tritt vor trophischen Hautveränderungen wie Hyperpigmentierung, Stauungsekzem oder Ulzeration in Erscheinung. In der funktionellen Diagnostik mittels Duplexsonografie oder Ultraschall-Doppler können im Vergleich zum Lipödem pathologische Befunde erhoben werden. Mischtypen (Phlebolipödem) können auch hier auftreten. (Wilfried Schmeller & Ilka Meier-Vollrath, 2007)

### 1.6.4 Adipositas

Die Adipositas ist mit 37,6 % die häufigste Komorbidität von Lipödempatientinnen (Ghods et al., 2020). Zudem wird die Adipositas aber auch diagnostisch mit dem Lipödem verwechselt, weshalb es wichtig ist, die beiden Krankheitsbilder zu differenzieren. Die Adipositas ist eine multikausale Erkrankung, die unter anderem durch genetische Faktoren, endokrine und psychologische Erkrankungen oder den Lebensstil entsteht. Weitere biologische Faktoren wie Suchtverhalten und Stress können das Gewicht zusätzlich beeinflussen (Hebebrand et al., 2004). In Folge kommt es zu einer Vermehrung des epi- und subfaszialen Fettgewebes am gesamten Körper oder isoliert im Bereich des Rumpfes (Stammfettsucht). Die Adipozyten sezernieren Proteine (Adipokine), denen bei der Entstehung typischer Folgeerscheinungen im weiteren Krankheitsverlauf wie Dyslipidämie, Insulinresistenz oder arterielle Hypertonie eine entscheidende Rolle zugesprochen wird (Fasshauer et al., 2004). Die Adipositas tritt sowohl bei Männern als auch bei Frauen auf und lässt sich nach BMI in unterschiedliche Grade einteilen (siehe Tab. 2). Die

Fettgewebsvermehrung präsentiert sich dabei klinisch als nicht schmerzhaft und kann auch unter Erhalt der Körperproportion stattfinden (Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007). Eine begleitende Adipositas kann den Krankheitsverlauf des Lipödems negativ beeinflussen (Fife, Maus, & Carter, 2010). In der Adipositastherapie stehen neben der Behandlung begleitender Komorbiditäten vor allem konservative Maßnahmen wie Lifestylemodifikation zur Gewichtsreduktion im Vordergrund. Operative Therapiemaßnahmen wie bariatrische Operationen sollten nur in besonderen Fällen durchgeführt werden. (Schmeller, W. & I. Meier-Vollrath, 2007)

Tab. 2: Einteilung des Körpergewichts nach BMI (kg/m<sup>2</sup>)

| Kategorie     | BMI         | Kategorie           | BMI         |
|---------------|-------------|---------------------|-------------|
| Untergewicht  | < 18,5      | Adipositas Grad I   | 30,0 – 34,9 |
| Normalgewicht | 18,5 – 24,9 | Adipositas Grad II  | 35,0 – 39,9 |
| Übergewicht   | 25,0 – 29,9 | Adipositas Grad III | ≥ 40,0      |

#### 1.6.5 Adipositas dolorosa

Die Adipositas dolorosa (auch Morbus Dercum) ist eine chronische Erkrankung, die vermehrt bei adipösen Frauen mittleren Alters um den Beginn des Klimakteriums auftritt. In der Anamnese zeigt sich häufig ein Alkoholabusus. Zudem können psychische Veränderungen (Depression, Reizbarkeit) bestehen. Klinisch präsentiert sich die Erkrankung mit einer schmerzhaften, symmetrisch ausgebildeten Vermehrung des subkutanen Fettgewebes ohne Ödembildung. Die Fettgewebsvermehrung manifestiert sich vor allem an den Beinen unter Aussparung der Füße oder an Rumpf und Armen. Aufgrund der ausgeprägten Schmerzsymptomatik wurden im Rahmen der therapeutischen Maßnahmen gute Erfahrungen mit Lidocaininfusionen gemacht (Steiner et al., 2002). Es ist nicht genau geklärt, ob die Adipositas dolorosa eine Sonderform eines spät manifestierten Lipödems ist oder als eigenständiges Krankheitsbild betrachtet werden kann. (Wilfried Schmeller & Ilka Meier-Vollrath, 2007)

### 1.6.6 Benigne symmetrische Lipomatose

Die benigne symmetrische Lipomatose (Madelung-Krankheit) ist eine seltene Erkrankung, die häufiger Männer als Frauen betrifft. Anamnestisch zeigt sich ähnlich der Adipositas dolorosa gehäuft ein Alkoholabusus. Zudem leiden die Patient\*innen mehrfach bereits an äthyltoxischen Folgeerscheinungen wie Lebererkrankungen, Polyneuropathie, Diabetes mellitus oder Hyperurikämie. Im Rahmen der benignen symmetrischen Lipomatose kommt es zu einer diffusen, teigig-derben Vermehrung des subkutanen Fettgewebes. Klinisch werden mit dem Hals-Nacken-Typ (Typ I, „Büffelhocker“), dem Schultergürteltyp (Typ II), dem Beckentyp (Typ III, „gynäkoider Typ“) und dem abdominalen Typ (Typ IV) je nach Lokalisation unterschiedliche Subtypen definiert. (Sehouli, Stengel, & Schauwecker, 1997)

Tab. 3: Klinische Merkmale wichtiger Differentialdiagnosen. Auf Basis von (Reich-Schupke et al., 2017), Tab. 4; Symbolerklärung: ↑↑↑ vorhanden; ↑ / → möglich; – nicht vorhanden

|                | <b>Lipödem</b> | <b>Adipositas</b> | <b>Lymphödem</b> | <b>Lipohypertrophie</b> |
|----------------|----------------|-------------------|------------------|-------------------------|
| Fettvermehrung | ↑↑↑            | ↑↑↑               | ↑ / →            | ↑↑↑                     |
| Disproportion  | ↑↑↑            | ↑ / →             | ↑↑↑              | ↑↑↑                     |
| Druckschmerz   | ↑↑↑            | –                 | –                | –                       |
| Hämatomneigung | ↑↑↑            | –                 | –                | ↑ / →                   |
| Ödembildung    | ↑↑↑            | ↑ / →             | ↑↑↑              | –                       |
| Fußbeteiligung | –              | ↑↑↑               | ↑↑↑              | –                       |

## 1.7 Diagnostik

Die Diagnosestellung des Lipödems erfolgt klinisch durch Anamnese, Inspektion und körperliche Untersuchung. Die von Wold et al. 1951 veröffentlichten Hauptcharakteristika der Erkrankung werden auch heute in abgewandelter Form zur Diagnosestellung berücksichtigt. Weiterführende diagnostische Maßnahmen wie Funktionsuntersuchungen oder bildgebende Verfahren gehören nicht zur Standarddiagnostik, können aber im Rahmen von Verlaufskontrollen, differentialdiagnostischen Fragestellungen oder für wissenschaftliche Zwecke herangezogen werden (Reich-Schupke et al., 2017; Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007). Die Diagnosestellung sollte möglichst frühzeitig angestrebt werden. Bei normalgewichtigen Patientinnen ist das phänotypische Erscheinungsbild häufig eindeutig ausgeprägt, wodurch die Diagnose erleichtert wird (Ernst et al., 2022). Bei Überschneidung phänotypisch ähnlicher Erkrankungen kann die Diagnosestellung allerdings erheblich erschwert sein (Duhon et al., 2022).

### 1.7.1 Klinische Diagnostik

Typische anamnestische und klinische Diagnosekriterien des Lipödems auf Basis von Forner-Cordero et al. und Reich-Schupke et al. (Forner-Cordero et al., 2012; Reich-Schupke et al., 2017):

- Erstmanifestation in / um Pubertät, Schwangerschaft, Menopause
- Disproportionale Vermehrung des subkutanen Fettgewebes zwischen Körperstamm und Extremitäten
- Hände und Füße nicht betroffen
- Kalibersprung (Kragenbildung) im Bereich der Gelenke
- Spontanschmerz oder schmerzhafte Palpation, im Tagesverlauf progredient
- Spannungs- und Schweregefühl der betroffenen Extremitäten
- Ödembildung, im Tagesverlauf progredient
- Stemmer-Zeichen negativ
- Hämatomneigung

Zusätzlich können im Rahmen der ambulanten Verlaufskontrolle, aber auch bei erschwerter Diagnosestellung weitere klinische Parameter erhoben werden, um

den Krankheitsverlauf detailliert zu verfolgen und potenzielle Komorbiditäten wie Adipositas zu erkennen ((ORDE), 2014). Hierzu zählen neben Gewicht und BMI auch Umfang- und Volumenmessungen der betroffenen Extremitäten sowie das Verhältnis von Taille zu Hüfte („Waist-Hip-Ratio“) oder von Hüfte zu Körpergröße („Waist-Height-Ratio“) und die Erfassung der körperlichen Aktivität (Reich-Schupke et al., 2017).

#### 1.7.2. Weiterführende Diagnostik

##### 1.7.2.1 Labordiagnostik

Für umfangreiche labordiagnostische Blutuntersuchungen gibt es bei Lipödempatientinnen aufgrund nicht zu erwartender pathologischer Ergebnisse bisher keine Indikation ((ORDE), 2014). Sie können jedoch im Rahmen differentialdiagnostischer Überlegungen herangezogen werden (Forner-Cordero et al., 2012). Trotz des potenziellen hormonellen Einflusses in der Pathophysiologie des Lipödems ist die Durchführung endokrinologischer Untersuchungen bisher nicht indiziert ((ORDE), 2014).

##### 1.7.2.2 Streeten-Probe

Die Streeten-Probe (Wasser- und Natrium-Belastungstest) ist ein lymphologischer Funktionstest, der Hinweise auf eine erhöhte Kapillarpermeabilität liefern kann. Der Test kann beim Auftreten klinisch passender Befunde zur Diagnosestellung herangezogen werden und bei der Beurteilung einer orthostatischen Ödemneigung hilfreich sein (Forner-Cordero et al., 2012). Die Patientin trinkt nach vorangegangener Miktio 20 ml Wasser pro kg Körpergewicht und steht für 4 Stunden in aufrechter Körperposition. In diesem Zeitraum wird die Urinabgabe sowie Körpergewicht und Beinvolumen vor und nach der Durchführung der Probe gemessen. Eine Urinsekretion < 60% der verabreichten Trinkmenge und eine Volumenzunahme von > 250 ml pro Bein liefern ein pathologisches Testergebnis ("S2k Leitlinie - Diagnostik und Therapie der Lymphödeme," 2017).

### 1.7.2.3 Messung der Dielektrizitätskonstante

Für differenzialdiagnostische Überlegungen kann die Dielektrizitätskonstante gemessen werden, um den lokalen Flüssigkeitsgehalt in Gewebeabschnitten zu quantifizieren. Hierbei werden elektromagnetische Wellen mit einer Frequenz von 300 MHz und einer Eindringtiefe von 5 mm emittiert, die vom Gewebe reflektiert werden. Birkballe et al. haben in einer Studie gezeigt, dass der lokale Flüssigkeitsgehalt im Gewebe unbehandelter Lymphödempatientinnen signifikant höher ist als bei therapierten Lymphödempatientinnen, Lipödempatientinnen oder der Kontrollgruppe (Birkballe et al., 2014).



Abb. 7: Messung des lokalen Flüssigkeitsgehaltes mittels Dielektrizitätskonstante (Mayrovitz, McClymont, & Pandya, 2012), Fig. 1

#### 1.7.2.4 Weitere Apparative Verfahren

Die im Rahmen von Verlaufskontrollen und zur Quantifizierung der lipödematösen Fettgewebsvermehrung angewandten morphologischen Verfahren liefern bisher wenig spezifische Befunde, sodass die Abgrenzung zu wichtigen Differentialdiagnosen wie der Lipohypertrophie oder der Adipositas schwierig sein kann (Reich-Schupke et al., 2017).

Marshall beschrieb 1996 in sonographischen Untersuchungen mittels hochauflösendem Ultraschall eine homogene Verdickung der Subkutis mit vermehrter Echogenität und echoreichen Septen (Marshall, 1996). Ähnliche Befunde können auch durch computertomographische Untersuchungen (Werner & Rodiek, 1993) und mittels Magnetresonanztomographie (MRT) (Dimakakos et al., 1997) erhoben werden. Beweisend für das Lipödem sind die unspezifischen subkutanen Verdickungen jedoch nicht (Reich-Schupke et al., 2017).

Ähnlich verhält es sich auch mit den erhobenen Befunden morphologischer Untersuchungen des Lymphsystems. Mittels indirekter Lymphangiographie wurden Kontrastmitteldepots und schlangenförmig verlaufende Lymphkollektoren dargestellt, welche jedoch auch im Rahmen von Lymphödemem oder Adipositas vorkommen können (Weissleder & Brauer, 1997). In der Fluoreszenz-Mikrolymphographie zeigten sich Mikroaneurysmen der Lymphkapillaren, die zur Entstehung der Ödeme beitragen könnten (Amann-Vesti, Franzeck, & Bollinger, 2001). Funktionelle Untersuchungen in Form von Funktionslymphszintigraphie lieferten mit einem gesteigerten Lymphtransport in der Frühphase und einer verlängerten Transportzeit im fortgeschrittenen Stadium je nach Untersuchungszeitpunkt und Krankheitsstadium unterschiedliche Befunde (Brauer & Brauer, 2005). Regelmäßig finden sich bei Lipödempatientinnen allerdings nur geringgradige oder keine Veränderungen des Lymphtransports (van Geest et al., 2003). Dennoch könnte die Anwendung funktioneller Untersuchungen vor allem in frühen Krankheitsstadien von Bedeutung sein, um klinisch noch nicht manifestierte Veränderungen des Lymphgefäßsystems frühzeitig zu erkennen (Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007).



Eine weitere Methode zur Diagnosestellung könnte die Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA) werden, die bereits zur Abklärung einer Osteopenie oder Osteoporose Anwendung findet. Dietzel et al. untersuchten in einer Studie regionale Unterschiede bezüglich der Verteilung von Fett-, Muskel- und Knochenmasse bei Lipödempatientinnen und einer gesunden Kontrollgruppe. Es wurde gezeigt, dass die subkutane Fettmasse der Lipödempatientinnen über alle Kategorien des BMI im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher war (Dietzel et al., 2015).



Abb. 8: Diagnostisches Vorgehen bei Patientinnen mit Lipödem-ähnlicher Klinik. Auf Basis von (Warren Peled & Kappos, 2016), Figure 3

## 1.8 Therapie

Die komplexe und nicht vollständig aufgeklärte Pathophysiologie der Erkrankung limitiert die Auswahl an therapeutischen Möglichkeiten (Szél et al., 2014). Eine kausale Therapie ist bisher nicht bekannt (Reich-Schupke et al., 2017). Die therapeutischen Hauptziele sind neben der Symptomlinderung auch das Verhindern eines progredienten Krankheitsverlaufs und potenzieller Spätkomplikationen (Reich-Schupke et al., 2017). Zentraler Therapiebestandteil ist die Patientinnenaufklärung und -edukation, um ein realistisches Bild des Krankheitsverlaufs, der therapeutischen Möglichkeiten und deren Resultate zu vermitteln (Warren Peled & Kappos, 2016). Durch die Kombination konservativer und operativer Maßnahmen kann eine Reduktion der klinischen Symptomatik erzielt werden.

### 1.8.1 Konservative Therapie

Ein wichtiger Teil der konservativen Therapiemaßnahmen wird unter dem Begriff der kombinierten physikalischen Entstauungstherapie (KPE) zusammengefasst und zur Reduktion von Schmerzentwicklung und Ödembildung durchgeführt (Herpertz, 2014). Die KPE setzt sich aus manueller Lymphdrainage (MLD), Kompressionstherapie (KT), Bewegungstherapie und Hautpflege zusammen und verläuft in einer Entstauungs- und Erhaltungsphase. Zusätzlich zur MLD und KT kann auch die apparative pneumatische Kompression als unterstützende Maßnahme durchgeführt werden (Szolnoky, Borsos, et al., 2008). Hierbei wird in doppelwandigen Manschetten maschinell ein erhöhter Luftdruck und dadurch Kompression auf die jeweilige Extremität erzeugt.

Wichtig ist, die KPE regelmäßig und konsequent durchzuführen, um klinisch eine Verbesserung zu erreichen. Dabei beeinflussen Faktoren wie Krankheitsstadium und -verlauf, Ausprägung und Intensität der Beschwerden den Umfang der Therapiemaßnahmen bezüglich Intensität und Frequenz. (Reich-Schupke et al., 2017)

Die KPE führt sowohl zu einer Steigerung des Lymphtransports als auch zu einer Verbesserung des VAR und der Hautelastizität (Tan et al., 2011). Dadurch kann eine objektiv messbare Ödemreduktion und eine begrenzte Umfangsminderung

der betroffenen Extremität erreicht werden (Deri & Weissleder, 1997). Zudem beschrieben Szolnoky et al. nach durchgeführter Entstauungstherapie eine Verbesserung der Kapillarfragilität (Szolnoky, Nagy, et al., 2008). Eine Volumenreduktion des subkutanen Fettgewebes ist im Rahmen der KPE jedoch nicht möglich (Reich-Schupke et al., 2017).

Zusätzlich zur KPE nehmen weitere konservative Therapiemaßnahmen wie moderate körperliche Aktivität, Physiotherapie, Ernährungsberatung und gegebenenfalls psychotherapeutische Verfahren eine wesentliche Rolle bei Komorbiditäten wie Adipositas ein. Die Adipositas gilt mit 37,6% als häufigste Begleiterkrankung (Ghods et al., 2020) und kann zu einem progredienten Krankheitsverlauf führen (Fife, Maus, & Carter, 2010). Eine Gewichtsreduktion ist nach Leitlinie der Deutschen Adipositas-Gesellschaft generell bei adipösen Patientinnen ab einem BMI > 30 kg/m<sup>2</sup> oder im Rahmen von Begleiterkrankungen empfohlen, die durch Adipositas progredient verlaufen ((DAG), 2014). Insgesamt sollte bei Lipödempatientinnen ein Normalgewicht angestrebt, eine Gewichtszunahme vermieden und das Körpergewicht langfristig stabilisiert werden ((DAG), 2014; Södlerlund, Fischer, & Johansson, 2009).

Eine medikamentöse Therapie mittels Diuretika zur Reduktion der Beinödeme ist nicht indiziert. Im Gegenteil würde man durch die Diuretikaeinnahme die Ödembildung sekundär verstärken, da durch den Flüssigkeitsentzug die im Gewebe verbleibenden kolloidosmotisch aktiven Proteine Wasser aus dem Gefäßsystem ins Interstitium ziehen. (Herpertz, 2014)

Die Einnahme von Kortikosteroiden stellt ebenso keine therapeutische Option dar. Obwohl Kortikosteroide kurzzeitig zu einer Schmerz- und Ödemreduktion führen können, geht die Medikamenteneinnahme mit einem erhöhten Infektionsrisiko und einer gesteigerten Proliferation des subkutanen Fettgewebes einher. (Herbst, 2012)

Die Gabe von Selen hat sich bei der Therapie sekundär auftretender Lymphödeme in mehreren Studien als wirksam erwiesen (Bruns, Micke, & Bremer, 2003; Conley et al., 2004). Es wurde gezeigt, dass Selen die Ausschwemmung der Lymphödeme unterstützen, lokale Infektionen reduzieren,

den Hautstatus verbessern und Rezidive verhindern kann (Herbst, 2012; Korzilius, 1996).

### 1.8.2 Operative Verfahren

Das operative Mittel der Wahl ist die Liposuktion. Sie wird eingesetzt, um eine Reduktion des lipödematösen Fettgewebes zu erreichen und kann in zwei Techniken durchgeführt werden. Die heutzutage etablierte Methode ist die sogenannte „nasse Methode“ („wet technique“), die mit stumpfen Mikrosonden unter Applikation individuell angepasster Volumina lokaler Tumescenzanästhesie durchgeführt wird (siehe 3.5). Das zwischen den Bindegewebsfaszien liegende subkutane Fettgewebe wird durch Aspirationskanülen unter Anlage eines Vakuums abgesaugt (Kaufmann, Podda, & Landes, 2005). Durch unterstützende Techniken wie Wasserstrahl (Water jet-assisted Liposuction, WAL), Vibration (Vibration-assisted Liposuction, VAL) oder Ultraschall (Ultrasound-assisted Liposuction, UAL) kann die Liposuktion möglichst risikoarm, lymph- und gewebeschonend durchgeführt werden (Langendoen et al., 2009; Stutz & Krah, 2009). Dabei werden je nach Verteilungstyp und Krankheitsstadium unterschiedliche Fettvolumina pro Operation abgesaugt. Mengenangaben variieren hierbei zwischen 900 und 5500 ml Lipoaspirat (Schmeller & Meier-Vollrath, 2005).

Die Liposuktion kann sowohl im ambulanten als auch im stationären Setting durchgeführt werden. Häufig erfolgen multiple Eingriffe, da mehrere Körperregionen vom Lipödem betroffen sind. Insgesamt kann der Eingriff zu einer Normalisierung der Gesamtproportionen und zu einer Reduktion der klinischen Befunde wie Hämatomneigung, Ödembildung, Spontan- und Druckschmerz führen (Rapprich, Dingler, & Podda, 2010; Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007). Zudem kann eine Reduzierung der notwendigen konservativen Therapiemaßnahmen erreicht werden, teilweise sogar eine Therapiefreiheit (Schmeller, Hueppe, & Meier-Vollrath, 2012). Die erzielten Befundverbesserungen können hierbei über mehrere Jahre persistieren (Baumgartner, 2014; Rapprich, Dingler, & Podda, 2010). Insgesamt kann die Reduktion der Symptomatik und eine verbesserte Mobilität zu einer deutlichen Steigerung der Lebensqualität führen (Reich-Schupke et al., 2017).

Die Liposuktion ist vor allem indiziert, wenn es zu einer Beschwerdepersistenz oder -progredienz trotz adäquat durchgeführter konservativer Maßnahmen kommt (Schmeller & Baumgartner, 2014). Sie ist keine Methode zur Gewichtsreduktion (Schmeller & Baumgartner, 2014). Bei begleitender ausgeprägter Adipositas sollten im Vorfeld alternative therapeutische Schritte eingeleitet werden und eine kritische Indikationsstellung ab einem BMI >32 kg/m<sup>2</sup> oder einem Gewicht von >120 kg erfolgen ((DAG), 2014; Rubin et al., 2012; Schmeller & Baumgartner, 2014).

Bei sehr ausgeprägten klinischen Befunden des Lipödems und Lipolymphödems können teilweise auch plastisch-chirurgische Maßnahmen (Dermolipektomie) indiziert sein, da es nach Gewichtsreduktion und vorangegangener Entstauung zu einem starken Gewebeüberschuss kommen kann (Reich-Schupke et al., 2017). Bariatrische Operationen können den Krankheitsverlauf bei kompliziertem Lipödem mit gleichzeitig auftretender morbidem Adipositas oder ausgeprägten Lymphödemem positiv beeinflussen, wenn prä- und postoperativ die KPE konsequent durchgeführt wird (Williams, 2004).

Tab. 4: Therapieoptionen des Lipödems und Behandlungsziele. Auf Basis von (Reich-Schupke et al., 2017), Tab. 6

| <b>Therapieziel</b>                              | <b>Therapiemaßnahme</b>                                                                         |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Schmerzreduktion                                 | Kompression, manuelle Lymphdrainage, apparative pneumatische Kompression, Liposuktion           |
| Ödemreduktion                                    | Kompression, manuelle Lymphdrainage, apparative pneumatische Kompression, Bewegung, Liposuktion |
| Reduktion der Hämatomneigung                     | manuelle Lymphdrainage, apparative pneumatische Kompression, Liposuktion                        |
| Reduktion des subkutanen Fettgewebes             | Liposuktion                                                                                     |
| Verhinderung mechanisch bedingter Komplikationen | Kompression, Liposuktion, Plastisch-chirurgische Eingriffe                                      |

## 1.9 Vaskuläre stromale Fraktion und adipöse mesenchymale Stammzellen (ADSCs)

Die Liposuktion gilt im Rahmen der Lipödemtherapie als operatives Mittel der Wahl und kommt gemeinsam mit konservativen Maßnahmen häufig zur Anwendung. Dieser therapeutische Ansatz eröffnet auch neue Möglichkeiten für die Forschung, da größere Mengen an Lipoaspiraten aus subkutanem Fettgewebe gewonnen und für weitere Untersuchungen genutzt werden können. Die Lipoaspirate werden vor allem zur Isolierung der stromalen vaskulären Fraktion (SVF) und reifer Adipozyten verwendet. (Ernst et al., 2022)

Die SVF ist ein Bestandteil des Fettgewebes, der durch enzymatische Prozesse und Zentrifugation ausgefällt werden kann. Innerhalb der SVF findet sich eine vielfältige Gruppe von Zellen, zu denen Endothelzellen, endotheliale Vorläuferzellen, ADSCs, Präadipozyten, Perizyten, glatte Muskelzellen, Fibroblasten, Lymphozyten und Makrophagen gehören (Bunnell, 2021; Dykstra et al., 2017).

ADSCs sind mesenchymale Stammzellen, die multipotent sind. Dies bedeutet, dass sie die Fähigkeit haben, abhängig von ihrer Umgebung und exogenen Faktoren zu verschiedenen Gewebetypen zu differenzieren. Mesenchymale Stromazellen können neben dem Fettgewebe auch im Knochenmark und im perinatalen Gewebe wie der Plazenta oder der Nabelschnur vorkommen (Schäfer & Bieback, 2016). Durch die ethisch gut vertretbare Gewinnung und ihre relativ einfache ex vivo-Expansion sind die Zellen für den therapeutischen Einsatz reizvoll (Fekete et al., 2012). Durch Zelldifferenzierung und Freisetzung bioaktiver Substanzen spielen sie vor allem beim Gewebeersatz und der Gewebeheilung und damit im Bereich der regenerativen Medizin eine große Rolle (Bora & Majumdar, 2017). Der therapeutische Einsatz der SVF und der ADSCs wird aktuell in klinischen Studien geprüft. Die Therapiemöglichkeiten sind sehr umfangreich und beinhalten unter anderem die Therapie von Autoimmunerkrankungen, Knochendefekten und Arthrosen, Wundheilungsstörungen und neurodegenerativen Erkrankungen (Amann et al., 2020).



Abb. 9: Auszug der therapeutischen Wirkung von mesenchymalen Stromazellen. Auf Basis von (Amann et al., 2020), Tab. 1

Im Rahmen der Lipödemforschung werden sowohl mit ADSCs als auch reifen, isolierten Adipozyten Experimente durchgeführt. Die ADSCs, die insgesamt weniger als 0,1% der SVF ausmachen, nehmen hierbei eine zentrale Rolle ein (Zohora et al., 2019). Die Charakterisierung erfolgt nach Wachstumsmuster, Differenzierungspotenzial und durch die Verwendung immunphänotypischer Marker (Sarantopoulos et al., 2018). Die Zellen können sowohl in undifferenziertem als auch differenziertem Zustand kultiviert werden. Sie unterlaufen dabei im Basismedium ohne Differenzierungsstimuli keine spontane Lipogenese (Ernst et al., 2022).

Die Kultivierung von reifen Adipozyten ist häufig etwas schwieriger, da sie durch das im Zytoplasma eingelagerte Fett im Kulturmedium aufschwimmen, verklumpen und sich dadurch nicht gleichmäßig ausbreiten (Zhang et al., 2000). Sie müssen deswegen unter speziellen Bedingungen („ceiling cultures“) kultiviert werden, andernfalls tritt bei einem großen Anteil der Adipozyten eine Zelllyse auf (Zhang et al., 2000).

## 1.10 Aktuelle Ergebnisse aus in vivo-, ex vivo- und in vitro-Studien

Das weiße Fettgewebe ist aus einer heterogenen Gruppe von Zellen aufgebaut. Durch Wechselwirkungen zwischen den Parenchymzellen werden Ausdehnung, Wachstum und die physiologische Funktion des Fettgewebes reguliert (Ioannidou, Fisher, & Hagberg, 2022). Neben den fettspeichernden Adipozyten finden sich Adipozytenvorläufer und Stammzellen, zelluläre Blutbestandteile, Endothelzellen und Immunzellen (Lee, Wu, & Fried, 2013). Vor allem den Endothelzellen, die gemeinsam mit Perizyten die Kapillaren bilden, wird durch Regulation der Zufuhr von Gasen, Flüssigkeiten und Makromolekülen eine zentrale Rolle im Metabolismus der Parenchymzellen zugeschrieben (Ioannidou, Fisher, & Hagberg, 2022; van Dijk et al., 2015). Neben der bereits bekannten Barrierefunktion wurde gezeigt, dass auch das Volumen und die Art der eingelagerten Lipide in Fettdepots vom Endothel beeinflusst wird (Yucel & Arany, 2019). Die Adipozyten sind von interstitieller Flüssigkeit umgeben und in ein Netzwerk von Proteinen der Extrazellulärmatrix eingebettet, das die strukturelle Integrität gewährleistet (Rutkowski, Davis, & Scherer, 2009).

Die bisher beschriebenen morphologischen Veränderungen des subkutanen Fettgewebes bei Lipödempatientinnen betreffen unter anderem Adipozyten und Vorläuferzellen, Endothel, Lymphsystem, interstitielle Flüssigkeit und die Zusammensetzung der Extrazellulärmatrix mit Kollagenablagerung und Fibrosierung (Torre et al., 2018). Somit ist das Lipödem eine Erkrankung, die nicht nur das Fettgewebe betrifft, sondern auch im umliegenden Gewebe („loose connective tissue“) zu Veränderungen führt (Herbst et al., 2020).

Im Folgenden werden aktuelle Ergebnisse von Studien auf histomorphologischer und zellulärer Ebene erläutert.

### 1.10.1 Adipogenese

Die adipogene Differenzierung ist ein komplexer Prozess, der auf zellulärer Ebene in zwei Schritten abläuft. Im ersten Schritt („commitment step“) entstehen aus den ADSCs Präadipozyten, die im zweiten Schritt („differentiation step“) zu reifen, funktionellen Adipozyten differenzieren (Rosen & Spiegelman, 2014). Nach Induktion der Adipogenese kann das Fortschreiten der Differenzierung



anhand der Akkumulation zytoplasmatischer Triglyzeride („lipid droplets“, LD) und adipogener Genexpression beobachtet werden (Ducharme & Bickel, 2008).

Es wurden Unterschiede bezüglich der Struktur reifer, isolierter Adipozyten (einzelnes, großes, unilokulares LD) und in vitro differenzierter Adipozyten (kleine, multilokuläre LD) von Lipödempatientinnen beschrieben (Baganha, Schipper, & Hagberg, 2022). Bisher ist nur wenig über die Entstehung und Entwicklung der LDs bekannt. Trotzdem könnten die LDs vorrangig aufgrund ihrer Beteiligung an zentralen Prozessen wie der Lipolyse und Lipophagie eine bedeutsame Rolle bei der Entwicklung von Krankheitsmerkmalen wie der Hypertrophie von Fettzellen im lipödematösen Gewebe spielen. (Ernst et al., 2022; Olzmann & Carvalho, 2019).

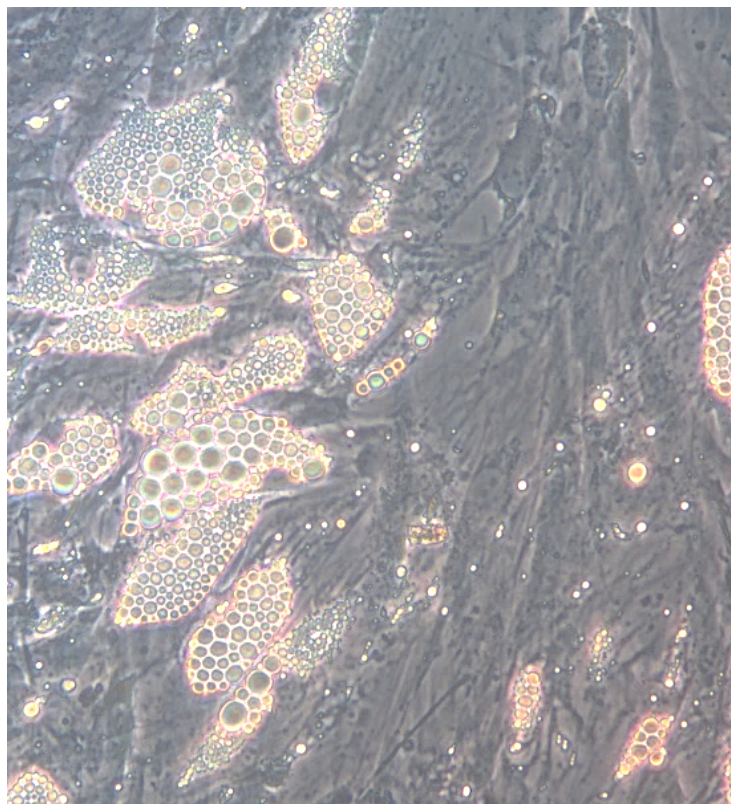


Abb. 10: Exemplarische Aufnahme von Lipid Droplets 21 Tage nach induzierter adipogener Differenzierung; Vergrößerung 10 x

Vergleiche der adipogenen Genexpression von lipödematösen Adipozyten und deren Kontrollgruppen lieferten heterogene Ergebnisse. Mehrere Studien zeigten eine gesteigerte Expression adipogener Gene wie PPAR $\gamma$  (Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor- $\gamma$ ) (S. Al-Ghadban et al., 2020), CD36/Fettsäuretranslokase, Fettsäurebindungsprotein-4 (fatty acid binding

protein 4, FABP4) (Ernst et al., 2023) und Transkriptionsfaktor ZNF423 (Strohmeier et al., 2022). Andere Studien konnten jedoch keine Hochregulierung Adipogenese-bezogener Gene in der Genexpression beobachten (Felmerer, Stylianaki, Hägerling, et al., 2020; Strohmeier et al., 2022), sodass der Einfluss einer potenziellen Dysregulation bisher unklar bleibt.

Tab. 5: Adipogenese-bezogene Gene und ihre Funktion

| <b>Abkürzung</b>          | <b>Bezeichnung</b>                                     | <b>Vorkommen</b>                     | <b>Funktion</b>                                            |
|---------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| PPAR $\gamma$             | Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor- $\gamma$  | Fettgewebe                           | Intrazellulärer Transkriptionsfaktor                       |
| CD36/Fettsäuretranslokase | Cluster of Differentiation 36, Platelet Glycoprotein 4 | u.a.<br>Herzmuskel,<br>Skelettmuskel | Transport der Fettsäure über die Plasmamembran             |
| FABP4                     | Fatty-acid-binding-protein-4                           | Zytoplasma der Adipozyten            | Bindung langkettiger Fettsäuren und hydrophober Substanzen |
| ZNF423                    | Zinkfinger Protein 423                                 | ubiquitär                            | Korrespondierendes Protein wirkt als Kernprotein           |

### 1.10.2 Hypertrophie und Hyperplasie der Adipozyten

Wie schon in Kapitel 1.3 erwähnt, ist nicht hinreichend geklärt, ob es sich im Rahmen der pathophysiologischen Veränderungen der Adipozyten um eine Hypertrophie, eine Hyperplasie oder eventuell sogar um eine Kombination beider Formen handelt (Meier-Vollrath, Schneider, & Schmeller, 2005).

Im Rahmen der Hyperplasie kommt es zu einer gesteigerten Differenzierung von ADSCs und Adipozyten-Vorläuferzellen als Reaktion auf Umwelteinflüsse. Bei der Hypertrophie, die auch durch ein Ungleichgewicht zwischen Lipolyse und Lipogenese ausgelöst werden kann, werden hingegen vermehrt Triglyceride im Zytoplasma angereichert. (Ernst et al., 2022; Saponaro et al., 2015)

Mehrere Studien konnten bereits einen signifikanten Anstieg der Adipozytengröße von Lipödemspenderinnen im Vergleich zu deren Kontrollgruppe zeigen (Al-Ghadban et al., 2019; Felmerer, Stylianaki, Hägerling, et al., 2020; Wolf et al., 2021). Zudem wurde nach Zellisolierung und -kultivierung

wiederholt eine beschleunigte Proliferation der lipödematösen ADSCs im Vergleich zu nicht-lipödematösen ADSCs und eine gesteigerte Expression von Zellzyklusregulatoren beschrieben, die an der Proliferation beteiligt sind (Bauer et al., 2019; Felmerer, Stylianaki, Hägerling, et al., 2020; Ishaq et al., 2022). Priglinger et al. berichteten des weiteren von einer signifikant erhöhten Zellausbeute der SVF, die aus Lipoaspiraten von Lipödem-Spenderinnen isoliert wurde (Priglinger et al., 2017).

Obwohl der initiale Auslöser auf zellulärer oder molekularer Ebene weiterhin unbekannt bleibt, könnten sowohl Hyperplasie als auch Hypertrophie der Adipozyten eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie des Lipödems und der Akkumulation des veränderten Fettgewebes spielen (Ernst et al., 2022).

Tab. 6: Funktion beschriebener Zellzyklusregulatoren mit gesteigerter Expression

| Bezeichnung       | Funktion                                  | Effekt                                                                      | Studie                                          |
|-------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| BUB1              | Gen codiert für Serin- / Threoninkinase   | Aktivierung des mitotischen Checkpoints, Übergang von Metaphase zu Anaphase | (Bauer et al., 2019)                            |
| Cyclin D1 (CCND1) | Regulierung von Cyclin-abhängigen Kinasen | Integration mitogener und antimitogener Signale am G1/S-Phase Checkpoint    | (Felmerer, Stylianaki, Hägerling, et al., 2020) |

### 1.10.3 Chronische Inflammation

In mehreren Studien konnte eine gesteigerte Expression proinflammatorischer Gene und Proteine im lipödematösen Gewebe und Adipozyten festgestellt werden. Al-Ghadban et al. beobachteten ein erhöhtes Vorkommen von Interleukin 6, Interleukin 1 $\beta$  und TNF $\alpha$  in differenzierten Adipozyten von Lipödemsenderinnen (S. Al-Ghadban et al., 2020). Auch in Serumproben konnten erhöhte Werte von Interleukin 28A, Interleukin 29 und Interleukin 11 nachgewiesen werden (Wolf et al., 2021). Bauer et al. berichteten zudem von signifikant erhöhten Interleukin-8-Spiegeln in den Überständen kultivierter ADSCs im Vergleich zur Kontrollgruppe (Bauer et al., 2019). Dies könnte ein Hinweis auf eine Beteiligung der von den ADSCs abgeleiteten Zytokinen an

lokalen Entzündungsvorgängen in veränderten Geweben sein (Ernst et al., 2023). Vor allem der Einfluss proinflammatorischer Zytokine auf die Funktion der Endothelbarriere könnte eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie des Lipödems spielen (Maucher, Schmidt, & Schumann, 2021).

Tab. 7: Bisher beschriebene Zytokine, Syntheseort und Funktion

| <b>Zytokin</b>        | <b>Syntheseort</b>                                       | <b>Wirkung</b>                                                           | <b>Studie</b>                |
|-----------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| Interleukin 1 $\beta$ | Monozyten, Makrophagen, Dendritische Zellen              | proinflammatorisch                                                       | (S. Al-Ghadban et al., 2020) |
| Interleukin 6         | Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten                     | proinflammatorisch (Reifung der B-Zellen)                                | (S. Al-Ghadban et al., 2020) |
| Interleukin 8         | Monozyten, Endothelzellen, Fibroblasten                  | proinflammatorisch                                                       | (Bauer et al., 2019)         |
| Interleukin 11        | Adipozyten                                               | proinflammatorisch (gesteigerte Expression von MHC I und INF- $\alpha$ ) | (Wolf et al., 2021)          |
| Interleukin 28A       | Dendritische Zellen, Makrophagen, Mastzellen, TH1-Zellen | proinflammatorisch, antiproliferativ, antiviral                          | (Wolf et al., 2021)          |
| Interleukin 29        | Dendritische Zellen, Makrophagen, Mastzellen             | proinflammatorisch, antiproliferativ, antiviral                          | (Wolf et al., 2021)          |
| TNF $\alpha$          | Makrophagen                                              | Apoptose, Zelldifferenzierung, Zellproliferation                         | (S. Al-Ghadban et al., 2020) |

#### 1.10.4 Einfluss der Lymphe

Die Erstbeschreibung der Erkrankung als „ein durch dicke Beine und orthostatisches Ödem gekennzeichnetes Syndrom“ legte bereits sehr früh eine Beteiligung des Lymphsystems in der Pathophysiologie des Lipödems nahe (Wold, Hines, & Allen, 1951). Zudem belegten mehrere Studien, dass defekte Lymphgefäße und ein dadurch bedingter Lymphaustritt zur Akkumulation von Fettgewebe beitragen können (Escobedo & Oliver, 2017; Harvey, 2008).

Bisher durchgeführte Studien zur Beurteilung lymphatischer Veränderungen im Rahmen des Lipödems lieferten jedoch sehr heterogene Ergebnisse, die sich unter anderem auch durch das gleichzeitige Auftreten von Komorbiditäten wie der Adipositas erklären lassen (Ernst et al., 2023). In labormedizinischen Untersuchungen wurden erhöhte Werte des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors C (VEGF-C) im Serum (Felmerer, Stylianaki, Hollmén, et al., 2020) und des Plättchenfaktors 4 im Blutplasma (Ma et al., 2020) nachgewiesen, welche auf Veränderungen des Lymphsystems und potentielle Lymphdefekte hinweisen können. In morphologischen Studien wurden abnormale Gefäßphänotypen (Allen, Schwartz, & Herbst, 2020) und veränderte Lymphkapillaren mit mikrolymphatischen Aneurysmen (Amann-Vesti, Franzeck, & Bollinger, 2001) beschrieben. Apparative und invasive Untersuchungen des Lymphsystems zeigten sehr unterschiedliche Befunde, die sich von einer deutlichen Verlangsamung der Flussgeschwindigkeit (Bilancini et al., 1995), einer mäßigen Beeinträchtigung der lymphatischen Funktion (Harwood et al., 1996) bis zu einer subklinischen Ausprägung der Lymphödeme (Lohrmann, Foeldi, & Langer, 2009) erstreckten. In sonographischen Untersuchungen und mittels MRT konnten zudem in manchen Studien keine dermalen oder subkutanen Ödeme im Fett- und Muskelgewebe nachgewiesen werden (Düewell et al., 1992; Naouri et al., 2010).

Nach aktueller Studienlage spielt die Ödembildung durch ein pathologisch verändertes Lymphsystem bei der Entstehung des Lipödems eine eher untergeordnete Rolle. Vor allem im Frühstadium der Erkrankung (Stadium I und II) spricht ein fehlendes deutlich ausgeprägtes Lymphödem gegen eine zentrale Beteiligung in der Pathophysiologie des Lipödems (Rasmussen et al., 2022). Im weiteren Krankheitsverlauf kann eine venöse oder lymphatische Insuffizienz jedoch zu einer Progredienz der klinischen Befunde führen (Ernst et al., 2023; Poojari, Dev, & Rabiee, 2022).

#### 1.10.5 Veränderung der Endothelbarriere

Strohmeier et al. lieferten Hinweise auf pathologische Veränderungen des Gefäßsystems mit beeinträchtigter Endothelbarriere im Fettgewebe von Lipödempatientinnen. Es wurde in vitro gezeigt, dass lösliche Faktoren aus kultivierten SVF-Zellen von Lipödempenderinnen zu einer signifikanten

Reduzierung der Expression von vaskulärem endothelialen Cadherin (Cadherin 5) in Endothelzellen führte (Strohmeier et al., 2022). Cadherin 5 ist ein zentraler Bestandteil interendothelialer Zellverbindungen und spielt eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der endothelialen Barriere (Giannotta, Trani, & Dejana, 2013). Zudem sind Cadherine maßgeblich an der Regulierung intrazellulärer Signalwege beteiligt, sodass eine veränderte Expression nicht nur Auswirkungen auf die Permeabilitätseigenschaften im veränderten Fettgewebe haben könnte (Ernst et al., 2023; Giannotta, Trani, & Dejana, 2013).

#### 1.10.6 Fibrosierung und Veränderung der extrazellulären Matrix

Die Adipozyten des Fettgewebes werden von interstitieller Flüssigkeit umgeben und sind in ein Netzwerk von Proteinen der Extrazellulärmatrix eingebettet (Rutkowski, Davis, & Scherer, 2009). Die extrazelluläre Matrix besteht aus Faseranteilen (elastisch, retikulär und kollagen) und einer Grundsubstanz, die sich unter anderem aus Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen zusammensetzt (Aumailley & Gayraud, 1998). Flüssigkeit, die von Zellen oder Blutgefäßen an die EZM abgegeben wird, kann entweder durch Lymphgefäße abfließen oder wird im Gewebe durch Glykosaminoglykane und Proteoglykane gebunden (Levick & Michel, 2010). Je mehr Flüssigkeit ins Interstitium abgegeben wird, desto nachgiebiger wird der Gewebeverbund und die Synthese von Proteo- und Glykosaminoglykanen wird gesteigert (Herbst et al., 2021). Pathologisch vermehrte Flüssigkeitsansammlungen können die Sauerstoffzufuhr der Zellen beschränken und zu Hypoxie, Inflammation und Fibrosierung führen (Rutkowski, Stern, & Scherer, 2015).

Veränderungen der EZM bei Lipödempatientinnen mit vermehrten Kollagenablagerungen wurden bereits in Studien beschrieben (Sara Al-Ghadban et al., 2020; Felmerer, Stylianaki, Hägerling, et al., 2020). Kruppa et al. beobachteten einen Trend zur fortschreitenden Fibrosierung mit zunehmendem Lipödemstadium in betroffenen Oberschenkelregionen (Kruppa et al., 2023). Al-Ghadban et al. zeigten immunhistochemisch eine gesteigerte Expression von Laminin und Kollagen VI und eine verminderte Expression von Fibronectin bei differenzierten Zellen von Lipödempatientinnen (Sara Al-Ghadban et al., 2020). Zudem konnte eine leichte, jedoch nicht signifikant verminderte Expression der Matrix-Metalloproteinase 11 nachgewiesen werden, die auch im Rahmen einer

Adipositas fehlreguliert sein kann (Sara Al-Ghadban et al., 2020; Arcidiacono et al., 2017). Dies könnte zusätzlich zu einer gesteigerten Kollagenablagerung beitragen, da Matrix-Metalloproteinasen eine wichtige Rolle beim Abbau der kollagenen Fasern spielen und dadurch die Zusammensetzung der EZM beeinflussen (Poojari, Dev, & Rabiee, 2022).

## 1.11 Widersprüchliche Ergebnisse aus der aktuellen Forschung

Im folgenden Kapitel werden aktuelle und teils widersprüchliche Studienergebnisse behandelt, die unterschiedliche Aspekte des Lipödems betreffen.

### 1.11.1 Lipödem als progrediente Erkrankung

Laut S1-Leitlinie wird das Lipödem als chronische, progredient verlaufende Erkrankung beschrieben (Reich-Schupke et al., 2017). Die klinischen Erfahrungen zeigen allerdings häufig, dass sich die Erkrankung bei gleichbleibendem Körpergewicht auch klinisch über Jahre stabil präsentieren kann (Bertsch & Erbacher, 2018a). Es konnte zudem beobachtet werden, dass ein Fortschreiten der Erkrankung oftmals mit einer Gewichtszunahme verbunden ist (Wold, Hines, & Allen, 1951).

### 1.11.2 Ödembildung und Schmerzentwicklung

Ödeme sind Flüssigkeitsansammlungen, die im Interstitium entweder frei oder gebunden an Glykosaminoglykane oder Proteoglykane vorkommen (Herbst et al., 2020). Wie vorausgehend bereits erwähnt, wurden bisher sehr heterogene Veränderungen im subkutanen Fettgewebe mit unterschiedlich ausgeprägter oder nicht vorhandener Ödembildung beschrieben. Sowohl in den niederländischen als auch den britischen Leitlinien des Lipödems wird der Begriff des „Ödems“ deswegen explizit auf das Fettgewebe im Sinne einer Volumenvergrößerung („Fat Swelling“) bezogen ((ORDE), 2014; Wounds UK. Best Practice Guidelines The management of lipoedema, 2017).

Marshall et al. beschrieben einen direkten Zusammenhang zwischen der Ödemausprägung und der Schmerzentwicklung (Marshall, 2002). Nach neuen Erkenntnissen könnten jedoch vor allem pathophysiologische Faktoren wie chronische Inflammation und Gewebhypoxie maßgeblicher an der Schmerzentstehung beteiligt sein (Bertsch & Erbacher, 2018b; Mancuso, 2016).

### 1.11.3 Einfluss des Gewichts auf die klinischen Beschwerden

In der aktuellen Fachliteratur wird häufig die Meinung vertreten, dass konservative Maßnahmen zur Gewichtsreduktion wie Diät und gesteigerte



körperliche Betätigung zu keiner Reduktion des lipödematös veränderten Fettgewebes und des klinischen Beschwerdebilds führen (Herbst, 2012; Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007).

Klinische Erfahrungen zeigen, dass konservative oder chirurgisch-bariatrische Maßnahmen vor allem bei adipösen Lipödempatientinnen neben einer Gewichtsreduktion auch zu einer Umfangabnahme der Extremitäten führen können. Die Fettgewebsreduktion kann im weiteren Verlauf zu einer Besserung der klinischen Beschwerden, teilweise sogar zu einer Beschwerdefreiheit führen. Wichtig zu betonen ist jedoch, dass in diesen Fällen vor allem die Therapie der Adipositas im Vordergrund steht und eine Disproportionalität der Beine nach Gewichtsverlust weiter bestehen kann. (Bertsch & Erbacher, 2018c)

In klinischen Studien übergewichtiger und adipöser Patientinnen konnte gezeigt werden, dass Frauen bei erneuter Gewichtszunahme nach vorausgegangenem Gewichtsverlust überproportional im Bereich der unteren Körperhälfte zunehmen (Bosy-Westphal et al., 2013). Zudem wurde nachgewiesen, dass 80-99% aller Patientinnen nach erfolgreicher Gewichtsabnahme durch konservative Maßnahmen im Langzeitverlauf das Gewicht wieder zunehmen (Fildes et al., 2015; Nordmann et al., 2006; Stunkard & Mc, 1959). Aus diesem Grund wird Lipödempatientinnen vor allem eine Gewichtsstabilisierung mit mäßiger körperlicher Aktivität empfohlen, um das Risiko einer Fettgewebszunahme im Bereich der Beine und eine potenzielle Zunahme der Beschwerden zu reduzieren (Bertsch & Erbacher, 2018c).

#### 1.11.4 Liposuktion und ganzheitliche Therapieansätze des Lipödems

Die Liposuktion stellt derzeit den operativen therapeutischen Standard dar und kommt neben konservativen Therapiemaßnahmen häufig zum Einsatz. Wie schon vorausgehend erwähnt, kann durch die Liposuktion eine deutliche Reduktion der klinischen Befunde (Rapprich, Dingler, & Podda, 2010; Wilfried Schmeller & I. Meier-Vollrath, 2007), eine Normalisierung der Gesamtproportionen (Wilfried Schmeller & Ilka Meier-Vollrath, 2007) und eine Reduktion der notwendigen konservativen Therapiemaßnahmen, teilweise auch eine Therapiefreiheit (Schmeller, Hueppe, & Meier-Vollrath, 2012) erreicht werden.

Die aktuelle Studienlage zur Wirksamkeit der Liposuktion zeigt insgesamt jedoch heterogene Ergebnisse. In prospektiven klinischen Studien konnte in 30-97% der Fälle nach durchgeführter Liposuktion auf konservative Therapiemaßnahmen wie die KPE komplett verzichtet werden (Baumgartner, Hüppe, & Schmeller, 2015; Cornely & Dr. Gensior, 2014; Rapprich, Dingler, & Podda, 2010; Schmeller, Hüppe, & Meier-Vollrath, 2010). Häufig wird zudem postuliert, dass die Liposuktion langanhaltende Ergebnisse liefert (Baumgartner, 2014; Rapprich, Dingler, & Podda, 2010). Eine Studie aus dem Jahr 2011 zeigte jedoch, dass eine erneute Gewichtszunahme nach durchgeführter Liposuktion vor allem in abdominellen Regionen, aber auch in den voroperierten Oberschenkel- und Hüftregionen zu Fetteinlagerungen führen kann (Hernandez et al., 2011). Auch hier scheint somit die Stabilisierung des Gewichts eine zentrale Rolle in der Erhaltung der operativen Ergebnisse zu spielen (Warren Peled & Kappos, 2016).

Grundsätzlich sollte die Liposuktion nach medizinischer Indikationsstellung im Rahmen eines multikausalen Therapieansatzes zur Anwendung kommen, um wirksame Ergebnisse zu liefern. Hierzu zählen neben den chirurgischen Maßnahmen vor allem konservative Therapiemöglichkeiten wie prä- und postoperative KPE, die Therapie von Komorbiditäten wie Adipositas, psychosoziale Therapie mit Patientinneneduktion, Stabilisierung des Gewichts und Physio- und Bewegungstherapie. (Bertsch, Erbacher, & Elwell, 2020)



Abb. 11: Bestandteile des ganzheitlichen Therapieansatzes. Auf Basis von (Bertsch, Erbacher, & Elwell, 2020), Fig. 8.4

## Zielsetzung

Das Lipödem ist eine Erkrankung, die nicht nur die Fettzellen betrifft, sondern auch im umliegenden Gewebe („loose connective tissue“) zu Veränderungen führt (Herbst et al., 2020). Unterschiedliche Studien haben gezeigt, dass im Verlauf der Erkrankung Veränderungen in der EZM mit fortschreitender Fibrosierung auftreten können (Sara Al-Ghadban et al., 2020; Felmerer, Stylianaki, Hägerling, et al., 2020; Kruppa et al., 2023). Neue Forschungsergebnisse haben zudem mitotisch aktive, nicht-adipogene Fibroblasten in differenzierten Zellkulturen von Lipödempenderinnen mittels Live-Cell-Imaging identifiziert (Ernst et al., 2023). Diese aktuellen Erkenntnisse werfen die Frage auf, welche Rolle nicht-adipogene Zellen bei der Entstehung der Fibrosierung spielen und wie sie zur Pathophysiologie des Lipödems beitragen könnten.

Das Hauptziel der Studie besteht darin, Veränderungen im Rahmen der Fibrosierung auf zellulärer und gewebemorphologischer Ebene zu beschreiben, um ein tieferes Verständnis für die Pathophysiologie dieser Erkrankung zu entwickeln. Ein besonderer Fokus liegt hierbei auf dem Zusammenhang zwischen Fibrosierung und Körpergewicht, da die Adipositas die häufigste Komorbidität des Lipödems darstellt (Ghods et al., 2020). Ein Ziel ist herauszufinden, ob die Veränderungen im Rahmen der Fibrosierung primär mit dem Körpergewicht oder dem Lipödem in Verbindung stehen. Für die Studie wurden sowohl kultivierte Adipozyten-Vorläuferzellen als auch histologische Schnitte aus biopsiertem subkutanem Gewebe herangezogen und mittels morphologischer, histochemischer und immunologischer Nachweisverfahren analysiert.

# Material und Methodik

## 3.1 Auflistung der verwendeten Chemikalien, Produkte und Geräte

Tab. 8: Liste der verwendeten Chemikalien

| Chemikalien                           | Hersteller                            | Nummer          |
|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|
| Alexa Fluor® 568 Phalloidin           | Molecular Probes                      | A-12380         |
| Alpha-SMA-Antikörper                  | Sigma-Aldrich                         | 0000090959      |
| Antibiotikum/Antimykotikum            | Sigma-Aldrich                         | A5955           |
| CitiFluor™                            | Electron Microscopy Sciences          | Lot: 210107     |
| DAPI (500x) (0.5 mg/ml)               | Sigma-Aldrich                         | D9542           |
| Desmin-Antikörper                     | ABclonal                              | Lot: 4000000235 |
| Dexamethason                          | Sigma-Aldrich                         | Lot: BCBW8446   |
| Dimethylsulfoxid                      | Sigma-Aldrich                         | Lot: BCBC5979   |
| Dulbecco's Modified Eagle Medium      | gibco®                                | Lot: 1858664    |
| Eosin, wasserlöslich                  | Chroma-Gesellschaft                   | 1-B-425         |
| Esel-Anti-Hase IgG (Alexa Fluor® 488) | Invitrogen, Thermo Fischer Scientific | Lot: VJ314112   |
| Esel-Anti-Maus IgG (Alexa Fluor® 488) | Invitrogen, Thermo Fischer Scientific | Lot: VE298230   |
| Ethanol absolut                       | Merck                                 | 1.00983.1011    |
| Eukitt® Schnelleinschlussmittel       | Sigma-Aldrich                         | Lot: BCBZ6120   |
| Expansionsmedium StemMACs             | MACS® Media                           | Lot: 5171129053 |
| Formaldehydlösung 37%                 | Merck                                 | 1.03999.2500    |
| Fötales Rinderserum (FBS)             | Sigma-Aldrich                         | F7524           |
| GlutaMAX™                             | Gibco                                 | Lot: 2027150    |
| Indomethacin                          | Sigma-Aldrich                         | Lot: 088M4033V  |
| Insulin                               | Sigma-Aldrich                         | 11061-68-0      |
| KCl                                   | Merck                                 | 1.04936.0250    |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>       | Merck                                 | 2198542         |
| Kollagenase A 0,1%                    | Sigma-Aldrich                         | 10103586001     |
| L-Glutamin                            | Sigma-Aldrich                         | G3126-100g      |

|                                  |                   |              |
|----------------------------------|-------------------|--------------|
| Mayer's Hämatoxylin              | Thermo Scientific | TA-125-MH    |
| Methylxanthin (IBMX)             | Sigma-Aldrich     | 28822-58-4   |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | Roth              | Art: P030.1  |
| NaCl                             | Merck             | 1.06404.0500 |
| Oil-Red-O-Lösung                 | Sigma-Aldrich     | O1391        |
| Paraformaldehyd (PFA)            | Roth              | Art: 0335.3  |
| Perjodsäure                      | Merck             | 5192925      |
| Roti®-Histol                     | Roth              | 6640.1       |
| Roticlear®                       | Roth              | 6476.1       |
| Schiffs Reagenz                  | Roth              | X900.2       |
| Triton-X                         | Sigma-Aldrich     | MFCD00128254 |
| Trypsin/EDTA-Lösung              | Sigma-Aldrich     | 59428C       |

Tab. 9: Liste der verwendeten Geräte und Produkte

| <b>Geräte und Produkte</b>                  | <b>Hersteller</b>   | <b>Nummer / Modell</b> |
|---------------------------------------------|---------------------|------------------------|
| 0.2 µm Membranfilter                        | Sarstedt            | 83.1826.001            |
| 10 ml/ 5ml Pipetten                         | Greiner BioOne      | P7740                  |
| 100 µm Zellsieb                             | Greiner BioOne      | 542000                 |
| 6-Well-Platten                              | Greiner BioOne      | M9062-100EA            |
| Biofuge Zentrifuge                          | Heraeus             | 43016445               |
| Einbettungsautomat                          | Leica               | TP1020                 |
| Einbettungsstation                          | Medite              | TBS88                  |
| Fluoreszenzfilter DAPI                      | AHF-Analysentechnik | F36-500                |
| Fluoreszenzfilter FITC                      | AHF-Analysentechnik | F36-525                |
| Fluoreszenzfilter Rhodamin                  | AHF-Analysentechnik | MBE34170               |
| Fluoreszenzmikroskop                        | Nikon               | Eclipse, E800          |
| Flüssigstickstoffbehälter                   | MVE                 | Cryosystem 750         |
| Gefrierschrank -80°C                        | Thermo Scientific   | TSX600V                |
| Gryphax®-Mikroskopkamera                    | Jenoptik, Germany   |                        |
| Inkubator Cell 240                          | Heraeus             | 43017197               |
| Kryoröhrchen                                | Greiner BioOne      | 121261                 |
| Laminar-Air-Flow-Abzug                      | Holten              | Model 1.2              |
| Leica CM 1950 Mikrotom                      | Leica               | 4868/2015.03           |
| Objektträger HistoBond®                     | Marienfeld          |                        |
| Olympus CX 41                               | Olympus             | Kamera: 8J20404        |
| Paraffin-Kassette                           | Medite              |                        |
| Phasenkontrastmikroskop                     | Zeiss               | Axiovert™ 10           |
| RGB-Kamera                                  | Nikon               | DS-Ri1                 |
| Roti®-Plast Paraffin                        | Roth                | 6642.5                 |
| Wasserbad                                   | Ing. G. Strasser    |                        |
| Zellkulturflasche 25 und 75 cm <sup>2</sup> | Greiner BioOne      | C6231, C7231           |
| Zentrifugenröhrchen                         | Greiner BioOne      | T2318                  |

### 3.2 Untersuchungsmaterial

Die Experimente wurden an menschlichen Stromazellen, die aus Fettgewebe gewonnen wurden und an biopsierten subkutanen Gewebeproben durchgeführt. Die Stromazellen wurden aus der SVF aus Lipoaspiraten isoliert, die bei der Liposuktion gewonnen wurden. Von allen Patientinnen wurde im Vorfeld eine Einverständniserklärung eingeholt. Alle Versuchsprotokolle zu menschlichem Fettgewebe in Form von biopsiertem Material und Lipoaspiraten wurden von der Ethikkommission Salzburg, Österreich genehmigt.

### 3.3 Probandinnen

Das Untersuchungsmaterial wurde von einer Gruppe anonymisierten Frauen gespendet. Zum Zeitpunkt der Operation waren sie im Durchschnitt  $32 \pm 9$  Jahre alt. Die Liposuktion erfolgte entweder als medizinisch indizierter, therapeutischer Eingriff (Lipödem-Spenderinnen), oder im Rahmen einer ästhetischen Operation (Nicht-Lipödem-Spenderinnen).

### 3.4 Patientinnenkollektiv und -charakteristik

Die anonymisierten Spenderinnen wurden nach Diagnose und medizinischer Indikation der Operation sowohl in die Gruppen „Lipödem-“ und „Nicht-Lipödem-Spenderinnen“ als auch hinsichtlich ihres BMIs unterteilt. Die Kohorte umfasste insgesamt 27 Frauen, die zum Zeitpunkt der Probeentnahme keine bekannten Komorbiditäten hatten.

Die Gruppe der Spenderinnen mit Lipödem setzte sich wie folgt zusammen: 10 mit einem normalgewichtigen BMI ( $< 25,0 \text{ kg/m}^2$ ), 5 mit einem übergewichtigen BMI ( $25,0\text{-}29,99 \text{ kg/m}^2$ ), 8 mit einem adipösen BMI ( $\geq 30,0 \text{ kg/m}^2$ ). Die Gruppe der Nicht-Lipödem-Spenderinnen umfasste 4 Probandinnen mit einem normalen BMI ( $< 25,0 \text{ kg/m}^2$ ).

### 3.5 Probengewinnung

Die Entnahme subkutaner Gewebebiopsien erfolgte im Rahmen der Liposuktion. Hierbei wurde die Entnahmestelle (lateraler Oberschenkel, Unterschenkel) mehrfach desinfiziert und die Gewebeproben im Anschluss mit steriler Pinzette

und Schere entnommen, in kleine Stücke geschnitten (etwa 3 mm<sup>3</sup>) und in toto sofort in 4% Paraformaldehyd fixiert. Abschließend erfolgte die Hautnaht der Inzisionen mittels Einzelknopfnähten und die Anlage eines Pflasterverbandes.

Die Gewinnung des Lipoaspirats erfolgte im Rahmen einer VAL in Tumescenztechnik. Hierbei wird die stumpfe Liposuktionskanüle an ein vibrierendes Handstück angeschlossen, um die Fettzellen durch die vibrierende und oszillierende Bewegung aufzulockern und das Gewebe möglichst schonend penetrieren zu können (Liehn et al., 2021). Die Operationslagerung richtete sich je nach der zu behandelnden Körperregion in Bauch- oder Rückenlage. Die Operation erfolgte in intravenöser Vollnarkose (TIVA) mit Intubation zur Atemwegssicherung. Nach dem sterilen Waschen des OP-Gebiets erfolgte die Infiltration der Tumescenzlösung in individuell angepasstem Volumen mittels einer Infiltrationspumpe. Die Tumescenzlösung setzte sich aus Kochsalzlösung als Trägermedium, einem Lokalanästhetikum (Lidocain oder Xylocain), Natriumbikarbonat (Erhöhung des Gewebe-pH-Wertes und bessere Penetration der Substanzen ins Gewebe), Adrenalin (Vasokonstriktion) und Kortison (Vermeidung von Ödemen) zusammen (Liehn et al., 2021). Anschließend folgten die Hautschnitte mittels Stichinzision und die Liposuktion der jeweiligen Körperregion in fächerförmiger und zirkulärer Technik zur Gewinnung des Lipoaspirats. Dabei wurde der Durchmesser und die Länge der Liposuktionskanülen an die jeweilige Körperregion und das Volumen des vorhandenen Fettgewebes angepasst. Abschließend erfolgte die Hautnaht der Inzisionen mittels Einzelknopfnähten und die Anlage eines Pflasterverbandes.

### 3.6 Zellisolierung

Die Isolierung der SVF aus dem Lipoaspirat der Lipödem-Spendergruppe und der Nicht-Lipödem-Kontrollgruppe wurde nach Schema von Bauer et al. (Bauer et al., 2019) und Ernst et al. (Ernst et al., 2023) durchgeführt. Abb. 12 zeigt die unterschiedlichen Arbeitsschritte der Isolierung.

Zur Zellisolierung wurde Kollagenase A 0,1% (Sigma-Aldrich) in Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS) gelöst und die Kollagenase-PBS-Lösung anschließend mit dem Lipoaspirat in gleichen Volumina gemischt. Im Anschluss erfolgte die Inkubation des Gemischs in einem Wasserbad unter konstanter Bewegung für 30 Minuten bei 37°C. Die fortschreitende Dissoziation durch die



Kollagenase wurde mittels Zugabe von Expansionsmedium (StemMACs, MiltenyiBiotec) gestoppt. Im Anschluss erfolgte eine Zentrifugation (340 x g) für 10 Minuten und der Überstand wurde verworfen. Nach Resuspension in PBS wurde das Zellpellet durch ein 100-µm-Zellsieb (Greiner BioOne) filtriert, um Zellaggregate und Zellbruchstücke zu beseitigen. Die gewonnene Zellsuspension wurde anschließend erneut für 10 Minuten zentrifugiert (340 x g). Im letzten Schritt erfolgte die Resuspension des Pellets in Kulturmedium und die Überführung in unterschiedlichen Dichten in die Kulturflaschen (Greiner BioOne) mit 25 cm<sup>2</sup> und 75 cm<sup>2</sup> Wachstumsfläche.

Zur Herstellung von PBS wurde 5 g Natriumchlorid (NaCl) und 0,125 g Kaliumchlorid (KCl) in 250 ml Aqua dest. gelöst. In einem separaten Becherglas wurden Dinatriumhydrogenphosphat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) und 0,125 g Kaliumdihydrogenphosphat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) in 250 ml Aqua dest. gelöst. Nach vollständiger Auflösung aller Bestandteile wurden beide Lösungen in einem 500 ml Becherglas zusammengeführt. Die pH-Anpassung der Lösung erfolgte mit 0,1 mol/L Salzsäure (HCl), bis ein pH-Wert von 7,2 erreicht wurde. Im Anschluss wurde die Lösung mit einem sterilen Filter mit 0,2 µm Durchmesser (Sarstedt) filtriert und bei 4°C gelagert.

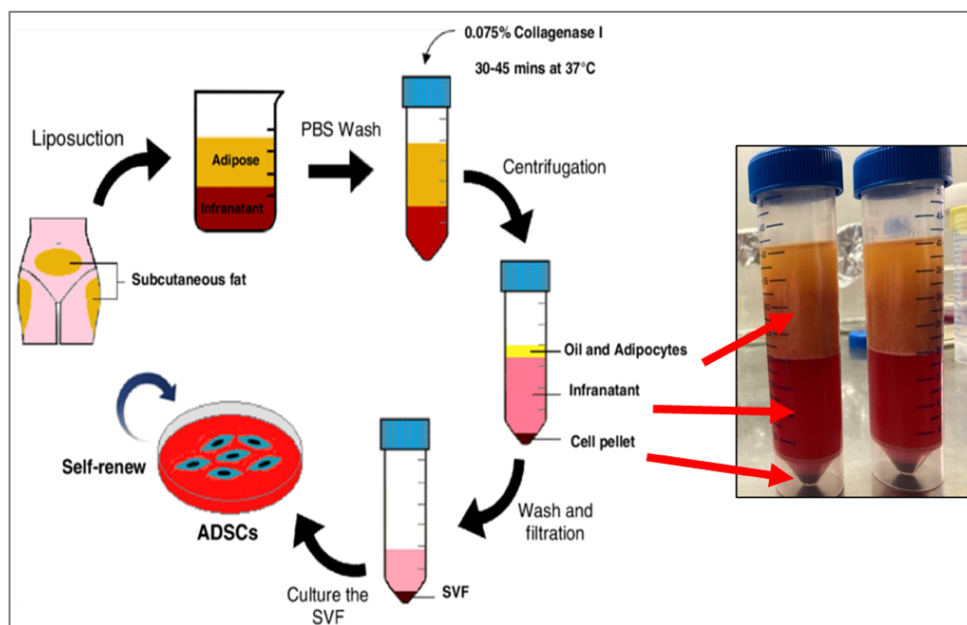


Abb. 12: Arbeitsschritte zur Separation der stromalen vaskulären Fraktion und Isolierung der ADSCs aus Lipoaspiraten. Auf Basis von (Ciervo et al., 2017), modifiziert von H. Bauer

### 3.7 Zellkultur

Die Kultivierung der ADSCs erfolgte wie in Ernst et al. beschrieben (Ernst et al., 2023). Alle Zellkulturarbeiten wurden grundsätzlich unter sterilen, möglichst konstanten Bedingungen durchgeführt. Nach der Zellisolierung erfolgte die Kultivierung der ADSCs in Basismedium mit hohem Glukosegehalt (Dulbecco's Modified Eagle Medium 4,5 g/L D-Glukose, DMEM). Zusätzlich wurden 1% Glutamin (GlutaMAX™), 10% fötales Rinderserum (Sigma) und 1% einer Antibiotikum/Antimykotikum-Lösung (Sigma) hinzugegeben, um für das Zellwachstum ein möglichst optimales Milieu zu schaffen. Die ADSCs wurden einmal pro Woche durch Zugabe eines frischen Nährmediums gefüttert. Zellmorphologie und -wachstum wurden regelmäßig mit einem Phasenkontrastmikroskop (Zeiss, Axiovert™) und einer Gryphax®-Mikroskopkamera (Jenoptik, Germany) untersucht.

### 3.8 Passagieren

Die ADSCs wurden 0-3-mal passagiert, bevor sie für Experimente herangezogen wurden. Das Passagieren der Zellkulturen erfolgte zur Ausdünnung der Zellmasse und zur Aufrechterhaltung der Proliferationsrate. Hierfür wurde die Flask unter dem Laminar-Air-Flow-Abzug (Holten) geöffnet und das überschüssige Nährmedium abgegossen. Im Anschluss erfolgte das Waschen des Zellrasens mit PBS, um Stoffwechselprodukte zu entfernen. Anschließend wurde eine Trypsin-Lösung (200 µl) hinzugegeben, um den Zellverbund enzymatisch von den Böden der Flasks zu lösen. Im Wärmeschüttler wurden die Flasks bei 37 °C für etwa 2 Minuten inkubiert. Nach lichtmikroskopischer Kontrolle der erfolgreichen Ablösung des Zellrasens wurde die enzymatische Wirkung des Trypsins durch Zugabe eines neuen, frischen Zellkulturmediums gestoppt. Nach Überführung der Zellsuspension in ein frisches Röhrchen folgte die Abzentrifugation der Zellen (5 min, 1000 U/min). Im Anschluss erfolgte die Abnahme des Überschusses und die Resuspension des Zellpellets in frischem Zellkulturmedium. Zuletzt wurde die Suspension in eine neue Zellkulturflasche überführt.

### 3.9 Kryokonservierung

Sobald die ADSCs konfluent waren, wurden sie entweder gemäß den zuvor beschriebenen Schritten weiterkultiviert oder für zukünftige Experimente kryokonserviert.

Für die Kryokonservierung wurde zunächst ein spezielles Medium vorbereitet, das auf DMEM basierte und zusätzlich 10% Dimethylsulfoxid (Sigma) enthielt, um mögliche Zellschäden durch intrazelluläre Kristallisation zu vermeiden. Dieses Medium wurde mittels eines sterilen Filters mit einem Durchmesser von 0,2  $\mu\text{m}$  (Sarstedt) filtriert. Danach wurden die Zellen gemäß den Vorbereitungsschritten für das Passagieren behandelt (siehe Abschnitt 3.8). Die Zellen wurden mit PBS gewaschen, anschließend mit Trypsin/EDTA behandelt, mit Medium versetzt, in Zentrifugenröhrchen überführt und zentrifugiert (200 x g, 5 Min). Nach der Zentrifugation wurde der Überstand verworfen, das Zellpellet im Medium resuspendiert und anschließend jeweils 1 ml der Zellsuspension in Kryoröhrchen (Greiner BioOne) überführt. Diese Röhrchen wurden dann für mindestens 4 Stunden bei  $-80^{\circ}\text{C}$  in einem Gefrierschrank (Thermo Scientific) gelagert. Zur langfristigen Konservierung wurden die ADSCs in flüssigem Stickstoff bei  $-196^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt, um Zellalterung und -schäden zu verhindern.

Das Auftauen der kryokonservierten Zellen zur Vorbereitung der Zellen für weitere Experimente erfolgte wie nachfolgend beschrieben: Das Basismedium wurde zunächst in einem Wasserbad (Ing. G. Strasser) auf  $37^{\circ}\text{C}$  erwärmt und Zentrifugenröhrchen mit jeweils 10 ml Basismedium vorbereitet. Die tiefgefrorenen Kryoröhrchen wurden aus dem  $\text{N}_2$ -Dewar (MVE Lab Series) entnommen und während des Transports in Eis gekühlt, um ein Erwärmen zu verhindern. Anschließend wurden sie rasch im Wasserbad bei  $37^{\circ}\text{C}$  erwärmt und langsam geschwenkt. Sobald nur noch geringe Eisverklumpungen sichtbar waren, wurden die Röhrchen zur Sterilbank gebracht. Dort wurde die Zellsuspension in das bereits erwärmte Medium überführt. Nach diesem Schritt wurde die Suspension bei 200 x g für 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Zellpellet in Basismedium resuspendiert, um dann in Zellkulturflaschen überführt und kultiviert zu werden.

### 3.10 Zellmorphologische Analyse

Für die zellmorphologische Analyse wurden die ADSCs von Lipödempatientinnen in Kulturflaschen kultiviert. Zellmorphologie und -wachstum wurden regelmäßig mit einem Phasenkontrastmikroskop (Zeiss, Axiovert™) und einer Gryphax®-Mikroskopkamera (Jenoptik, Germany) untersucht. Es wurden Fotos der ADSCs aufgenommen, als die Zellen in den 25 cm<sup>2</sup> Kulturgefäßen konfluent waren (7-15 Tage). Fünf Fotos pro Kulturgefäß wurden in den Passagen 0 und 1 aufgenommen, um zu kontrollieren, ob die Wachstumsmerkmale während des Passagierens bestehen blieben. Alle Bilder wurden mit einer 10-fachen Vergrößerung aufgenommen.

### 3.11 Adipogene Differenzierung

Um die mesenchymalen Stammzellen differenzieren zu lassen, wurden die Zellen mit einer Dichte von etwa 40.000 Zellen/Vertiefung in 6-Well-Platten (Greiner) ausgesät. Nach 24-stündigem Absetzen der Zellen wurde das Medium durch adipogenes Differenzierungsmedium ersetzt. Dieses enthielt zusätzlich zu den Inhaltsstoffen des Basismediums (siehe 3.7) die folgenden adipogenen Faktoren: 1 µmol/L Dexamethason (Sigma), 0,5 mmol/L 3-Isobutyl-1-Methylxanthin (IBMX; Sigma), 10 µg/ml Insulin (Sigma) und 100 µmol/L Indomethacin (Sigma). Nach 4 Tagen wurde das Differenzierungsmedium gegen ein Erhaltungsmedium (Basismedium plus 10 µg/ml Insulin) gewechselt. Nach 3 Tagen erfolgte ein neuerlicher Austausch des Erhaltungsmediums gegen ein Differenzierungsmedium. Der Wechsel des Differenzierungsmediums wurde 2 weitere Male in einer Zeitspanne von insgesamt 21 Tagen wiederholt. Von jedem Standard und jeder Probe wurden Duplikate erstellt.

### 3.12 Analyse der adipogenen Differenzierung und Lipidbeladung

Nach erfolgreicher Differenzierung wurde die in vitro Adipogenese der kultivierten Zellen von Lipödempatientinnen durch Einlagerung von Lipiden/Triglyceriden in Form von LDs beurteilt. Hierfür wurden die Zellen mit PBS gewaschen, mit 3,7% Formaldehyd fixiert und mit einer Oil-Red-O-Lösung (Sigma) gefärbt. Nach dem Spülen mit Leitungswasser wurden die Zellen unter einem Phasenkontrastmikroskop (Zeiss) analysiert und Aufnahmen gemacht.

### 3.13 Oil-Red-O-Färbung

Oil Red O (ORO) ist ein lipophiler Farbstoff, der die Färbung von Lipoproteinen, Cholesterylethern und neutralen Lipiden ermöglicht (Bharati et al., 2022). Durch seine gute Zellpermeabilität wird er oftmals zur Färbung von Geweben und intrazellulären Lipiden genutzt, in der neutrale Lipide, vor allem Triglyceride, in einem orange-roten Farbton erscheinen (Mehlem et al., 2013). Die ORO-Färbung wurde wie in Bauer et al. beschrieben durchgeführt (Bauer et al., 2019).

Tab. 10: Arbeitsschritte der ORO-Färbung bei Raumtemperatur

|                                                                                                                |         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1) Herstellung der Arbeitslösung: 3 Teile ORO-Stammlösung (Sigma) (0,5% in Isopropanol) und 2 Teile Aqua dest. |         |
| 2) Vermischen und ruhen lassen, Ausfällungen anschließend filtrieren                                           | 10 min  |
| 3) Waschen mit PBS                                                                                             |         |
| 4) Fixieren der Zellen mit 3,7% Formaldehyd                                                                    | 5 min   |
| 5) Waschen mit Aqua dest.                                                                                      |         |
| 6) Zellen mit 2 ml 60% Isopropanol vorbehandeln                                                                | 2-5 min |
| 7) 3 ml ORO-Arbeitslösung pro 10 cm-Platte inkubieren                                                          | 10 min  |
| 8) Auswaschen mit Leitungswasser                                                                               |         |
| 9) Platten bis zum Mikroskopieren in H <sub>2</sub> O oder Natriumazid 2% feucht halten                        |         |

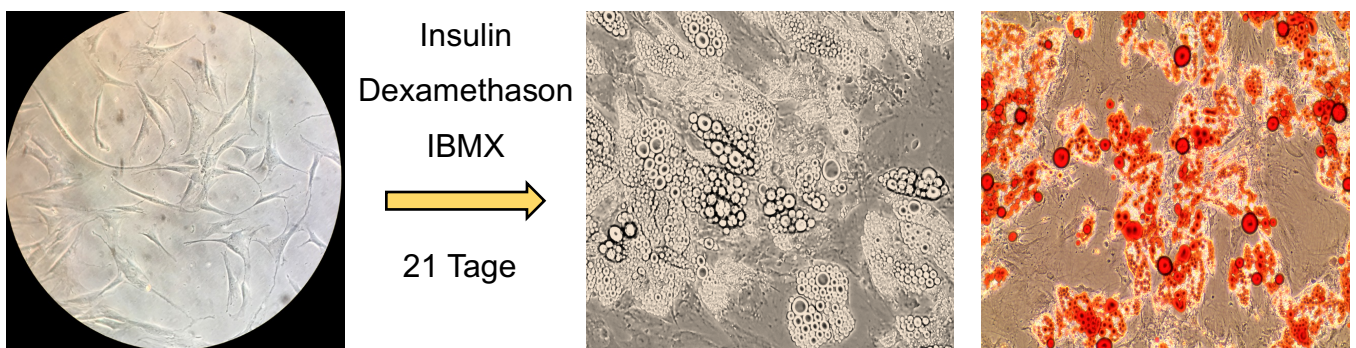


Abb. 13: Entwicklung undifferenzierter ADSCs zu differenzierten Zellen mit Lipideinlagerung und anschließender Färbung mit Oil-Red-O; Vergrößerung: 10x

### 3.14 Gewebehistologie

Um eine gute Strukturhaltung für nachfolgende histologische Untersuchungen gewährleisten zu können, wurden die entnommenen subkutanen Gewebebiopsien in Paraffin eingebettet. Im Folgenden ist der typische Ablauf beschrieben, der mit der Fixierung beginnt. Es folgt die Einbettung und schließlich das Anfertigen von Schnittpräparaten, damit anschließend die histologischen Färbungen durchgeführt werden können.

#### 3.14.1 Fixierung des Gewebes

Um die natürliche Form des Gewebes und die ursprüngliche Architektur möglichst gut erhalten und beurteilen zu können, wurden die Proben fixiert. Die Fixierung erfolgte in 4% Formaldehydlösung, hergestellt aus PFA in PBS bei Raumtemperatur, je nach Größe für mindestens 10 Stunden.

#### 3.14.2 Einbettung und Schneiden

Nach dem Auswaschen des Fixiermittels (3x mit PBS) wurden die Proben in PBS gelagert und 15-30 Minuten vor Start des Routine-Paraffineinbettungsverfahrens in 50% Ethanol überführt. Die Proben wurden mit einem Einbettungsautomaten (Leica) prozessiert (Tab. 11) und auf einer Einbettstation (Medite) in Paraffin-Blöcke/Kassetten (Medite) gegossen. Die gekühlten Blöcke wurden auf einem Mikrotom (Leica) mit einer Dicke von 5 µm geschnitten, in einem Wasserbad (45°C) gestreckt, auf Objektträger (HistoBond®, Marienfeld) aufgezogen und über Nacht bei 37°C bis 45°C im Wärmeschrank getrocknet. Die Schnitte waren am folgenden Tag bereit für die histologischen Untersuchungen.

Tab. 11: Prozessierungsschritte des Einbettungsautomaten

| Ethanol |        |        |        |        |        |         | Xylol  |        |        | Paraffin 56°C |        |         |         |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|---------------|--------|---------|---------|
| 70%     | 70%    | 80%    | 96%    | 100%   | 100%   | 100%    | I      | II     | III    | 1             | 2      | 3       | 4       |
| 60 min  | 90 min | 60 min | 90 min | 60 min | 90 min | 120 min | 30 min | 60 min | 90 min | 90 min        | 90 min | 120 min | 150 min |

### 3.14.3 Entparaffinierung

Um histologische Färbungen durchführen zu können, war es notwendig, das Paraffin aus den Gewebeschnitten herauszulösen. Die Paraffinschnitte wurden in Küvetten mittels Xylol entparaffiniert (vier Mal für jeweils 15 Minuten in Xylol). Danach erfolgte die Hydrolysisierung der Präparate in einer absteigenden Ethanolreihe, beginnend mit 2 x 100%, 96%, 90%, 80%, 70%, 60% Ethanol für jeweils 5 Minuten. Im Anschluss erfolgte die Überführung in destilliertes Wasser bis zur Färbung.

### 3.15 Lichtmikroskopische Färbungen

Nach Abschluss der Entparaffinierung und der lichtmikroskopischen Färbungen wurden die Gewebeschnitte in aufsteigender Alkoholreihe (60%, 70%, 80%, 96%, 2x100% à 5min) entwässert und über Xylol als Intermedium (2x2 min) mit Hilfe des Schnelleinschlussmittels Eukitt® (Fa. Riedel de Haen AG, Seelze) eingedeckelt.

#### 3.15.1 Periodic-Acid-Schiff-Reaktion nach McManus (PAS-Reaktion)

Die Periodic-Acid-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion) dient zum Nachweis kohlenhydrathaltiger Komponenten. Zu den PAS-positiven Bestandteilen gehören Glykogen, Glykolipide, Muzine, Basalmembranen und Kollagen. Im ersten Schritt kommt es zur Oxidation von Glykogen durch den Einsatz von Perjodsäure. Im Anschluss erfolgt die Färbung durch das im Schiff'schen Reagenz enthaltene Fuchsin, welches mit glykolhaltigen Substanzen einen roten bis purpurnen Farbkomplex bildet. In Verbindung mit Hämatoxylin erscheinen die Kerne blau bis violett. (Mulisch & Welsch, 2010)

Tab. 12: Arbeitsschritte der PAS-Reaktion

|                                                                                 |                     |
|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 1) Schnitte entparaffinieren                                                    |                     |
| 2) Waschen mit Aqua dest.                                                       | 5 min               |
| 3) Perjodsäure 0,5 %                                                            | 30 min              |
| 4) Waschen mit Aqua dest.                                                       | 5 min               |
| 5) Inkubation Schiff'sches Reagenz                                              | 50 min              |
| 6) Spülen mit Sulfitwasser                                                      | 2 x 2 min           |
| 7) Waschen mit Aqua dest.                                                       | 2 x 5 min           |
| 8) Hämatoxylin nach Mayer 4:1 Verdünnung                                        | 4 min               |
| 9) Spülen mit fließendem Wasser bis Farbumschlag                                | 10 min              |
| 10) Waschen mit Aqua dest.                                                      | 5 min               |
| 11) aufsteigende Ethanolreihe zum Entwässern (60%, 70%, 80%, 90%, 96%, 2x 100%) | jeweils 30 Sekunden |
| 12) Xylolreihe (I, II)                                                          | jeweils 2 min       |
| 13) Eindeckeln mit Eukitt®                                                      |                     |



### 3.15.2 Hämatoxylin-Eosin (HE) - Färbung nach Mayer

Die HE-Färbung ermöglicht eine ganzheitliche Übersicht der verschiedenen Strukturen des untersuchten Gewebes. Dies erleichtert die spätere Auswertung anderer histochemischer oder immunhistochemischer Färbungen. Das Färbeverfahren besteht aus zwei Einzelfärbungen. Einerseits wird Hämatoxylin zu färbendem Hämalaun umgewandelt (Godwin, 2011). Hämalaun färbt basophile Strukturen, insbesondere Zellkerne und das raue endoplasmatische Retikulum, blau bis blauschwarz (Mulisch & Welsch, 2010). Zum anderen färbt der synthetische Farbstoff Eosin azidophile Strukturen, beispielsweise Mitochondrien, Kollagen, Bindegewebe und Zellplasmae, blassrosa bis rotviolett (Mulisch & Welsch, 2010).

Tab. 13: Arbeitsschritte der HE-Färbung

|                                                                                |                     |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 1) Schnitte entparaffinieren                                                   |                     |
| 2) Waschen mit Aqua dest.                                                      | 2 x 5 min           |
| 3) Hämatoxylin nach Mayer 4:1-Verdünnung                                       | 4 min               |
| 4) Spülen mit fließendem Wasser bis Farbumschlag                               | 10 min              |
| 5) Eosin 1:1-Verdünnung                                                        | 2 min               |
| 6) mit Aqua dest. Spülen                                                       | 30 Sekunden         |
| 7) aufsteigende Ethanolreihe zum Entwässern (60%, 70%, 80%, 90%, 96%, 2x 100%) | jeweils 30 Sekunden |
| 8) Xylolreihe (I, II)                                                          | jeweils 2 min       |
| 9) Eindeckeln mit Eukitt®                                                      |                     |

## 3.16 Immunhistochemische Färbungen

### 3.16.1 Einführung und Methoden

Die Immunhistochemie (IHC) ist ein histologisches Verfahren zum Nachweis von spezifischen Zielstrukturen, den Proteinmarkern. Die Zielantigene sind Proteinstrukturen, die sich auf der Zelloberfläche oder im Inneren einer Zelle befinden.

Der erste Schritt zur IHC-Färbung besteht in der Anwendung eines Primärantikörpers, der selektiv an definierte Epitope des Zielantigens bindet. Dabei kann der Primärantikörper entweder mono- oder polyklonal aufgebaut sein. Monoklonale Antikörper binden ein einziges Epitop des Zielantigens, während polyklonale Primärantikörper aus einer Mischung von Antikörpern bestehen, die an verschiedene antigene Determinanten eines Proteins binden können. Durch den Aufbau des Primärantikörpers ergeben sich im Verlauf Unterschiede bezüglich der Färbungseigenschaften. (Hoff, 2022)

Um die Bindung des Primärantikörpers an das Zielprotein sichtbar zu machen, gibt es unterschiedliche Möglichkeiten. Im Rahmen der direkten Methode ist der Primärantikörper bereits an ein Enzym, das ein Farbsubstrat (z.B. 3,3'-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid, DAB) umsetzen kann, oder direkt an einen Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt. Bei der indirekten Methode wird die Visualisierung durch den Sekundärantikörper und seinem Konjugat erreicht. Hierbei wird der Primärantikörper am Fc-Teil von einem Sekundärantikörper gebunden. Dieser ist entweder direkt an einen Farbstoff oder alternativ an ein Enzym (z.B. Peroxidase) gekoppelt, welches im weiteren Verlauf ein Substrat umsetzt (Zwei-Schritt-Methode). Hierdurch kann im weiteren Verlauf eine Signalverstärkung erreicht werden. (Hoff, 2022)

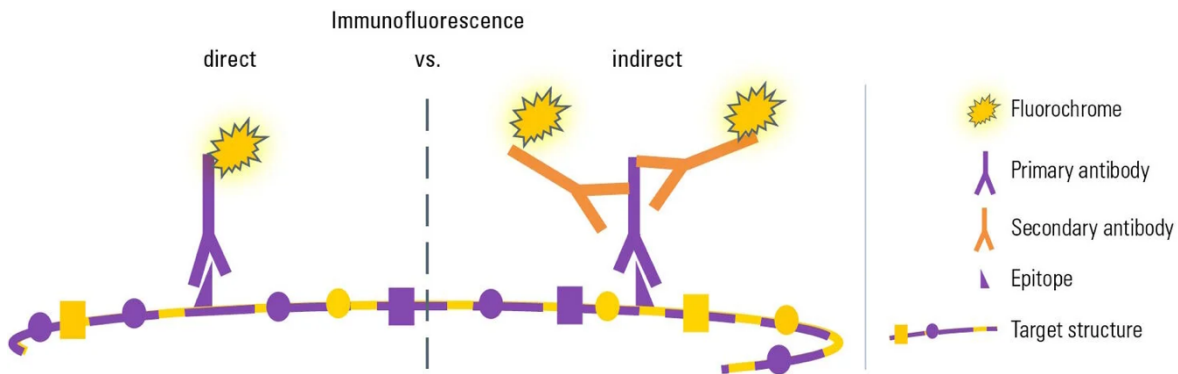


Abb. 14: Ablauf der direkten und indirekten Immunfluoreszenz; (Hoff, 2022), Abb. 2

### 3.16.2 Durchführung

Im Rahmen der immunhistochemischen Färbungen wurde Glattmuskelaktin ( $\alpha$ -SMA) in Kombination mit dem Nachweis von f-Aktin mittels Phalloidin als Bestandteil des Zytoskeletts untersucht.

Der Nachweis von Aktinfilamenten in den Zellkulturen erfolgte durch Färbeverfahren mit  $\alpha$ -SMA und Phalloidin. Im Rahmen der  $\alpha$ -SMA-Färbung wurde als primärer Antikörper der in Maus hergestellte monoklonale Anti-Aktin-Glattmuskel-Antikörper (Sigma) verwendet. Nachfolgend kam als sekundärer Antikörper ein Esel-Anti-Maus-Antikörper (Invitrogen, Thermo Fischer Scientific) zum Einsatz. Um eine Integration von  $\alpha$ -SMA in Stressfasern nachweisen zu können wurde ein fluoreszierendes, direkt markiertes Phalloidin (Phalloidin-Alexa-568, Molecular Probes) für eine Doppel-Färbung mit ergänzender Kerngegenfärbung mittels DAPI verwendet. Der Nachweis von Desminfilamenten erfolgte durch Anwendung eines in Maus hergestellten Desmin-Antikörpers (Sigma). Anschließend kam als sekundärer Antikörper ein Esel-Anti-Maus-Antikörper (Invitrogen, Thermo Fischer Scientific) zum Einsatz.

Die immunhistochemische Färbung erfolgte mit undifferenzierten ADSCs. Nach zweimaligem Waschen mit PBS folgte die Fixierung der an den Deckgläsern haftenden Zellen mit 4% PFA. Nach erneutem Waschen mit PBS wurden die Zellen mit dem Detergens Triton-X (Sigma) (0,2% in PBS, 7 min) permeabilisiert, um die Antikörperpenetration zu verbessern und formalinbedingten Proteinvernetzungen entgegenzuwirken. Nachfolgend wurden die Zellen in Blockierungspuffer mit PBS und Rinderserumalbumin (bovines Serumalbumin, BSA) versetzt, um eine unspezifische Bindung der Antikörper an Proteine zu

verhindern. Die primären Antikörper wurden über Nacht bei 4°C, die Sekundärantikörper und Reagenzien am nachfolgenden Tag inkubiert. Bei der Negativkontrolle wurde nur die Verdünnungslösung ohne Primärantikörper aufgetragen, der weitere Versuchsablauf blieb jedoch gleich. Die Kerngegenfärbung erfolgte mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI zur Markierung der DNA. Abschließend wurden die Zellen erneut mit PBS und Aqua dest. gewaschen, bevor sie mit der Zellseite nach unten auf den Objektträgern positioniert wurden. Zum Schutz vor etwaigem Ausbleichen der Fluoreszenzfarbstoffe (Photobleaching) wurde CitiFluor™, ein nicht-aushärtendes Eindeckmittel, verwendet.

Tab. 14: Auflistung verwendeter primärer und sekundärer Antikörper in der Immunfluoreszenz

| <b>Primärer AK</b>             | <b>Herkunft</b> | <b>Verdünnung</b> | <b>Sekundärer AK</b>                     | <b>Verdünnung</b> |
|--------------------------------|-----------------|-------------------|------------------------------------------|-------------------|
| Anti- $\alpha$ -SMA            | Maus            | 1:100             | Esel-Anti-Maus IgG<br>(Alexa Fluor® 488) | 1:1000            |
| Alexa Fluor®<br>568 Phalloidin | Maus            | 1:40              |                                          |                   |
| Anti-Desmin                    | Hase            | 1:100             | Esel-Anti-Hase IgG<br>(Alexa Fluor® 488) | 1:1000            |

Tab. 15: Arbeitsschritte der immunhistochemischen Färbung

|                                                                                           |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 1) Xylolreihe I bis V                                                                     | Jeweils 15 min            |
| 2) Absteigende Ethanolreihe (100% und 96%)                                                | 2x 5 min; 30 Sekunden     |
| 3) Hemmung der endogenen Peroxidase durch Inkubation mit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3% | 30 min                    |
| 4) Fortsetzung absteigende Ethanolreihe (90%, 80%, 70%, 60%)                              | Jeweils 5 min             |
| 5) Waschen mit Aqua dest. und PBS                                                         | 3 x 5 min                 |
| 6) Inkubation mit Triton-X 0,2 %                                                          | 7 min                     |
| 7) Blockierungspuffer (0,1% BSA)                                                          | 30 min                    |
| 8) Inkubation mit primärem AK                                                             | über Nacht bei 4°C        |
| 9) Waschen mit PBS                                                                        | 3 x 5 min                 |
| 10) Inkubation mit sekundärem AK                                                          | 30 min bei Raumtemperatur |
| 11) Waschen mit PBS                                                                       | 3 x 5 min                 |
| 12) Kerngegenfärbung mit DAPI 1:500 (Sigma)                                               | 5 min bei Raumtemperatur  |
| 13) Waschen mit PBS und Aqua dest.                                                        | 3 x 5 min                 |
| 14) Eindeckeln mit CitiFluor®                                                             |                           |

### 3.17 Mikroskopische Untersuchungen

Für die histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen wurden insgesamt Gewebebiopsien von 22 Lipödem-Spenderinnen (normalgewichtig: BMI < 25,0 kg/m<sup>2</sup>, n=9; übergewichtig: BMI ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>, n=13) und 4 Nicht-Lipödem-Kontrollen (normalgewichtig: BMI < 25,0 kg/m<sup>2</sup>, n=4) verwendet.

#### 3.17.1 Lichtmikroskopie

Nach Durchführung der PAS-Färbung wurden die Aufnahmen mit einem Lichtmikroskop (CX41, Olympus) unter Verwendung eines 20-fach-Objektivs (Olympus) und angeschlossener Kamera (Olympus) angefertigt. Je nach Gewebeschnitt wurden 5-10 Sichtfelder aufgenommen und im Anschluss der EZM-Durchmesser mittels Fiji-Software (Schindelin et al., 2012) ausgemessen. Pro Sichtfeld wurden 10 Messwerte erhoben.

### 3.17.2 Polarisationsmikroskopie

Nach erfolgreicher Entparaffinierung der Gewebeschnitte erfolgte eine Kerngegenfärbung mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI zur Markierung der DNA. Anschließend wurden die Schnitte mit PBS und Aqua dest. gewaschen, bevor sie mit CitiFluor® eingedeckelt wurden. Die gefärbten Gewebeschnitte wurden mit einem Lichtmikroskop (Axioplan, Zeiss) unter Verwendung eines 20-fach-Objektivs und Polarisationsfiltern (Axioplan, Zeiss) untersucht. Von jedem Schnitt erfolgten mit einer Digitalkamera (AxioCam, Zeiss) mindestens 3 Aufnahmen. Im Vorfeld wurden die gleichen Einstellungen bezüglich Wellenlänge und Belichtungszeit festgelegt. Die Bilder wurden im Anschluss mit der Fiji-Software (Schindelin et al., 2012) analysiert. Hierbei wurde nach manueller Auswahl kollagenhaltiger Bildausschnitte die mittlere Intensität der Aufnahmen ermittelt, um den Kollagengehalt der einzelnen Präparate quantifizieren und untereinander vergleichen zu können.

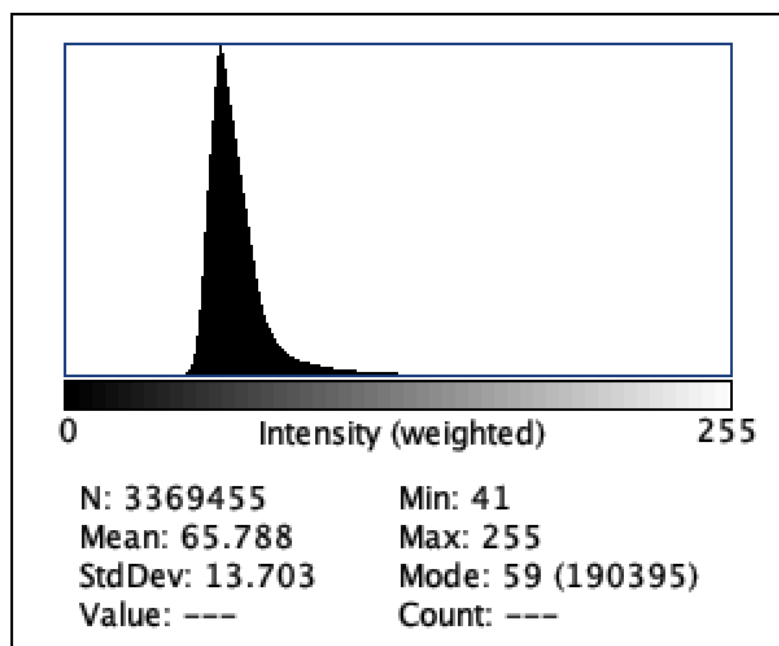


Abb. 15: Exemplarisches Histogramm zur Darstellung der gewichteten Graustufenintensität mit detektiertem Mittelwert (Mean) des ausgewählten Bildausschnittes; Fiji-Software (Schindelin et al., 2012)

### 3.17.3 Fluoreszenzmikroskopie

Nach erfolgreicher immunzytochemischer Färbung wurden die Aufnahmen mithilfe eines Fluoreszenzmikroskops (Nikon Eclipse) unter Verwendung des 40-

fach-Objektivs (Nikon) und angeschlossener RGB-Kamera (Nikon) mit der Software NIS Elements (Nikon) aufgenommen. Je nach Zelldichte wurden 5 bis 12 Sichtfelder abgelichtet und im Anschluss die Zellkerne ausgezählt. Die Aufnahmen der einzelnen Sichtfelder erfolgten in den folgenden drei Kanälen: DAPI, grün (488 nm) und rot (568 nm). Die Einzelaufnahmen wurden im Anschluss mithilfe der Software Adobe Photoshop in drei Ebenen überlagert.

### 3.18 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte durch Anwendung der Graph Pad Prism-Software (Version 8.4.3). Zur Auswertung der polarisationsmikroskopischen und immunhistochemischen Aufnahmen wurde zunächst der Shapiro-Wilk-Test durchgeführt, um die einzelnen Kategorien auf Normalverteilung der Daten zu überprüfen. Zur Kontrolle der Varianzhomogenität erfolgte der F-Test. Um zwei Gruppen nach Diagnose und Körpergewicht vergleichen zu können, wurde der t-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt und die Ergebnisse in Box-Whisker-Plots dargestellt. Für die Auswertung der PAS-Färbung wurde der Mann-Whitney-Test zum Vergleich von zwei Gruppen (Lipödem und Kontrolle) und der Kruskal-Wallis-Test zum Vergleich mehrerer Gruppen nach Körpergewicht angewandt, da die Daten keiner Normalverteilung unterlagen. Im Anschluss wurden Dunn's Mehrfachvergleichstests durchgeführt, um zwei Datengruppen innerhalb der drei verschiedenen BMI-Kategorien zu vergleichen. Die Ergebnisse wurden in Box-Whisker-Plots und Scatter-Plots dargestellt.

## Ergebnisse und Diskussion

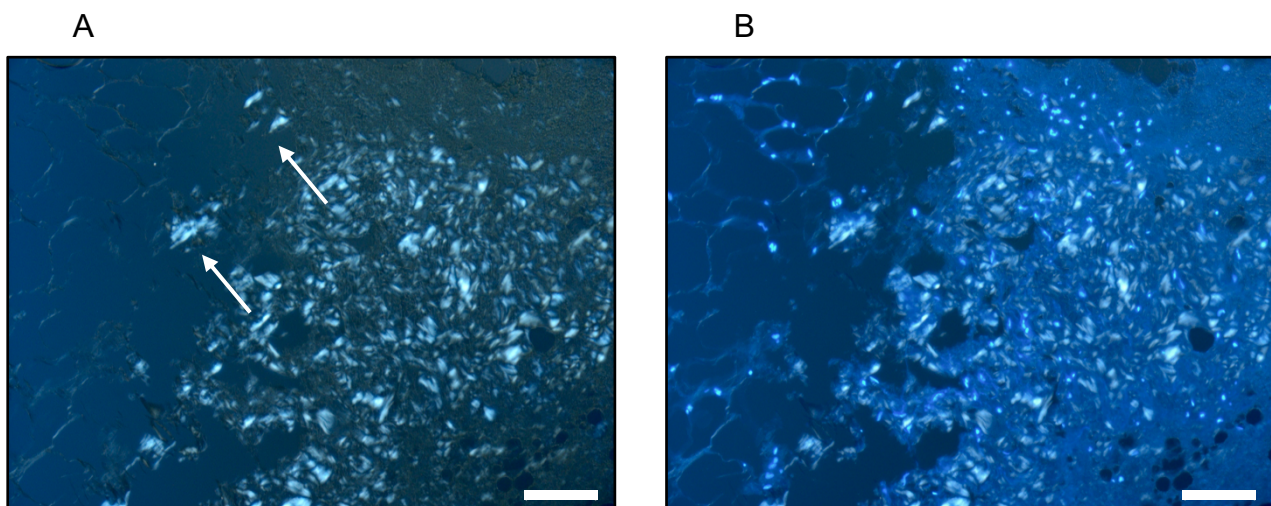
Die nachfolgenden Experimente wurden an histologischen Schnitten von biopsiertem Gewebe und an ADSCs durchgeführt, die aus der stromalen vaskulären Fraktion von Lipoaspiraten isoliert wurden. Für die immunhistochemischen Färbungen wurden Zellen der Passage 0 verwendet.

### 4.1 Polarisationsmikroskopie

#### 4.1.1 Ergebnisse

Die polarisationsmikroskopische Analyse der histologischen Schnitte erfolgte nach erfolgreicher Entparaffinierung und Kerngegenfärbung mit DAPI. Aufgrund der doppelbrechenden Struktureigenschaften imponierte das Kollagen hierbei deutlich sichtbar hell bzw. weiß.

In der mikroskopischen Untersuchung konnten in den Präparaten der Lipödemgruppe bereits bei geringer Vergrößerung Areale mit deutlich sichtbarer Kollagendeposition als Zeichen einer perizellulären Fibrosierung beobachtet werden. Im Vergleich zu den Gewebeschnitten der Kontrollgruppe zeigte sich zudem insgesamt eine Tendenz zu einem erhöhten Kollagenanteil über alle BMI-Gruppen hinweg. Insbesondere im Übergangsbereich zwischen Bindegewebe und Adipozyten, aber auch vereinzelt im Interstitium zwischen den Fettzellen wurden gehäuft dicht gepackte Kollageneinlagerungen beschrieben, wie in Abb. 15 dargestellt.





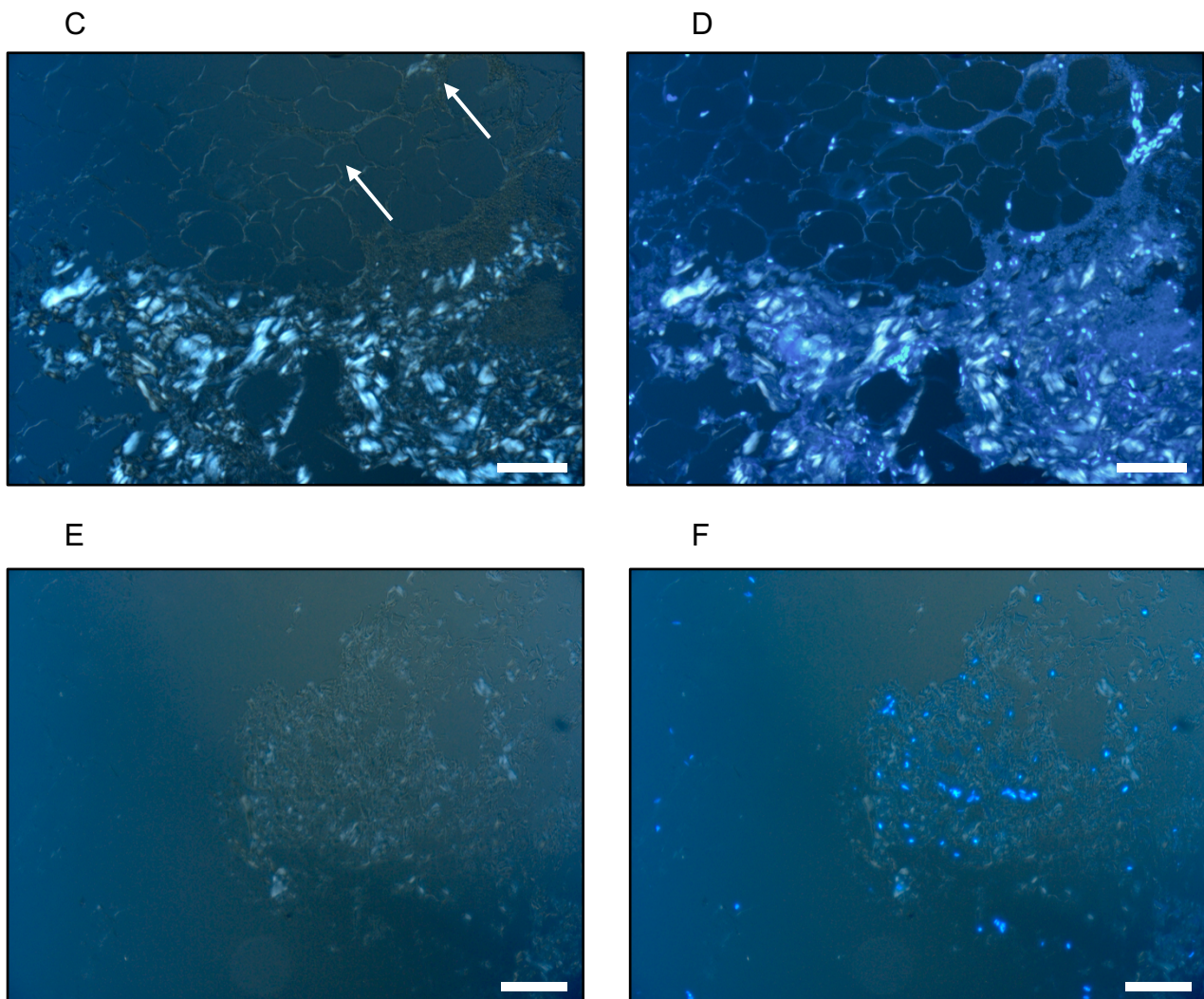


Abb. 16: Exemplarische Aufnahmen der Gewebeschnitte einer Lipödempatientin mit deutlich sichtbarer, stromaler Kollagendeposition (A-D); Kontrollpatientin (E, F); mit Pfeilen markierte Bildausschnitte zeigen dicht gepackte Kollagenablagerungen im Übergangsbereich zwischen Bindegewebe und Adipozyten und interstitiell zwischen den Fettzellen; BMI Lipödempatientin: 24,0 kg/m<sup>2</sup>; BMI Kontrollpatientin: 24,0 kg/m<sup>2</sup>; A,C,E: Polarisationsfilter; B,D,F: DAPI-Filter; Skalierungsbalken: 100 µm

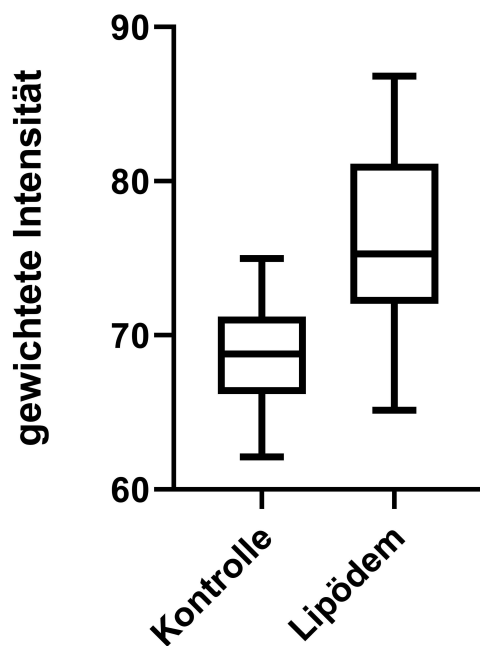
In der Bildauswertung wurde die gewichtete Intensität der jeweiligen Bildausschnitte durch die Ermittlung der Graustufen-Mittelwerte detektiert. Dadurch konnte eine quantitative Analyse der einzelnen Präparate nach ihrem Kollagengehalt durchgeführt werden. Die ermittelten Werte zeigten eine Varianz sowohl zwischen Lipödem- und Kontrollgruppe als auch innerhalb der Lipödemgruppe.

In der statistischen Auswertung wurde zunächst die normalgewichtige Lipödem mit der Kontrollgruppe verglichen (Abb. 17 a). Hier zeigte sich nach durchgeführtem t-Test ein signifikanter Unterschied ( $p = 0,01$ ) zwischen den

beiden Gruppen mit Medianwerten von 68.70 (Kontrolle) und 76.10 (Lipödem). Die Ergebnisse korrelierten hierbei mit den Beobachtungen der Polarisationsmikroskopie.

Um eine potenzielle BMI-abhängige Veränderung des Kollagengehalts zu detektieren, wurde die Lipödemgruppe in eine normal- und eine übergewichtige Untergruppe unterteilt (Abb. 17 b). Nach durchgeführtem t-Test zeigte sich hier kein signifikanter Unterschied ( $p = 0.162$ ) zwischen den beiden Gruppen mit Mittelwerten von 76.10 (normalgewichtig) und 73.17 (übergewichtig). Auch hier stimmten die statistischen Ergebnisse mit den Beobachtungen der Polarisationsmikroskopie überein.

a)



b)

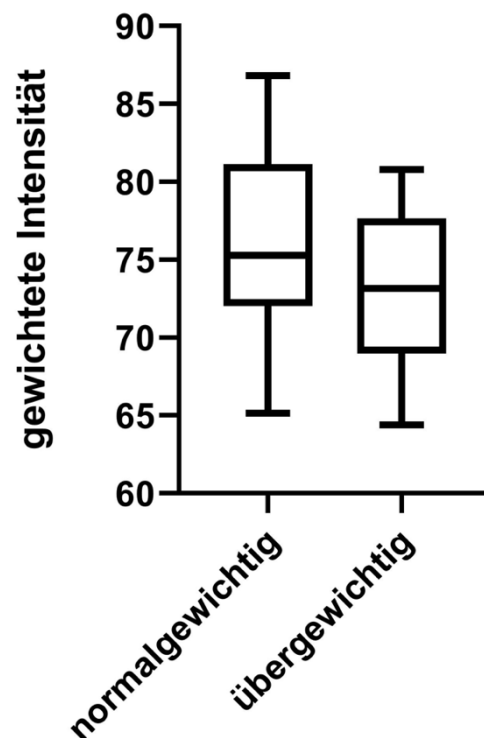


Abb. 17: Statistische Auswertung der Polarisationsmikroskopie; a) normalgewichtige Lipödem- und Kontrollgruppe im Vergleich; Kontrolle (n=2); Lipödem (n=4); b) normal- und übergewichtige Lipödempenderinnen im Vergleich; normalgewichtig (BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>; n=4); übergewichtig (BMI ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>; n=4)

#### 4.1.2 Diskussion

Das Lipödem ist eine Erkrankung des subkutanen Fettgewebes, die nicht nur die Fettzellen betrifft, sondern auch deutliche Auswirkungen auf das umliegende Gewebe hat (Herbst et al., 2020). Mehrere Studien haben gezeigt, dass im Verlauf dieser Erkrankung Veränderungen in der EZM mit teils progredienter Fibrosierung auftreten können (Sara Al-Ghadban et al., 2020; Felmerer, Stylianaki, Hägerling, et al., 2020; Kruppa et al., 2023).

Eine Fibrosierung beschreibt im Allgemeinen eine Gewebeveränderung, die mit Verhärtung, Vernarbung und übermäßigem Wachstum einhergehen kann. Sie tritt primär oder sekundär durch endogene und exogene Faktoren wie Infektionen, Ischämie oder Entzündungen auf. Im Rahmen der Fibrosierung kommt es zu einer Veränderung der EZM mit übermäßiger Ablagerung von Matrixbestandteilen- darunter vor allem Kollagen. (Wynn, 2008)

In der polarisationsmikroskopischen Analyse wurde die Kollagendeposition als Zeichen einer perizellulären Fibrosierung mittels Graustufen-Mittelwerten in histologischen Präparaten untersucht.

Es wurde festgestellt, dass die Gewebeschnitte von Lipödempatientinnen im Vergleich zur Kontrollgruppe einen signifikant höheren Kollagenanteil aufweisen ( $p < 0,05$ ). Die Ergebnisse wurden durch externe qPCR-Studien bestätigt, die eine signifikant erhöhte Expression von Kollagen-bezogenen Genen (Col1A1 und Col6A3) in Lipödem-Adipozyten aufzeigten (Sara Al-Ghadban et al., 2020). Zudem beschrieben Al-Ghadban et al. in ihrer Studie immunhistochemisch eine gesteigerte Expression von Kollagen VI und Laminin in differenzierten Zellen von Lipödempatientinnen (Sara Al-Ghadban et al., 2020).

In der Analyse von Lipödempatientinnen basierend auf ihrem Körpergewicht konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Untergruppen festgestellt werden ( $p > 0,05$ ). Es konnte somit keine BMI-bezogene Zunahme des Kollagengehalts nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse insgesamt deuten darauf hin, dass es im Verlauf pathophysiologischer Prozesse zu mikroskopisch sichtbaren Veränderungen der extrazellulären Matrix mit Kollagendeposition im umliegenden Gewebe kommen kann. Durch den signifikant erhöhten Kollagengehalt der Lipödemgruppe im

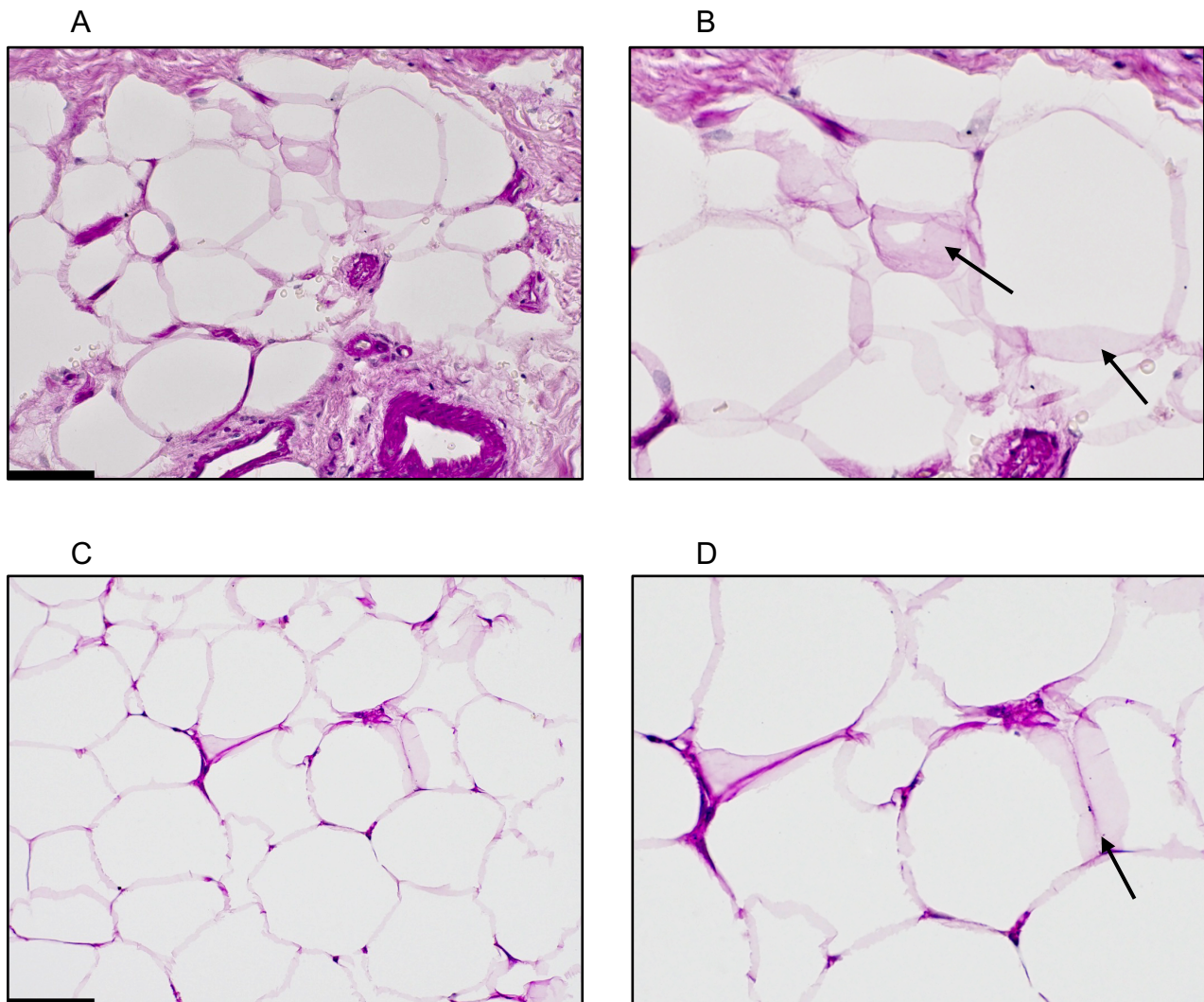
Vergleich zur Kontrollgruppe wurde weiterhin aufgezeigt, dass die Fibrosierung als spezifisches Merkmal des Lipödems angesehen werden kann. Eine BMI-abhängige Zunahme der Fibrosierung konnte nicht gezeigt werden. Vielmehr legen die Ergebnisse nahe, dass im Rahmen des Lipödems sowohl bei normal- als auch bei übergewichtigen Patientinnen ein unterschiedliches Ausmaß der Fibrosierung möglich ist.

## 4.2 PAS-Färbung

### 4.2.1 Ergebnisse

Die lichtmikroskopische Analyse der histologischen Schnitte erfolgte nach Entparaffinierung und PAS-Färbung. PAS-positive Anteile der EZM (z.B.: Glykogen, Glykolipide, Muzine und Kollagen) erschienen rot bis purpurn.

In der lichtmikroskopischen Untersuchung zeigten die Gewebeschnitte der Lipödemgruppe klar erkennbare Bereiche mit Veränderungen der EZM. Sowohl im interstitiellen Raum zwischen den Adipozyten als auch an den Grenzen zwischen Bindegewebe und Fettzellen wurde eine erhöhte Ansammlung von Matrixbestandteilen über alle BMI-Gruppen hinweg beobachtet, wie in Abb. 18 veranschaulicht ist. Im Vergleich zur Kontrollgruppe ließen sich diese EZM-Veränderungen in den Präparaten der Lipödempatientinnen häufiger feststellen.





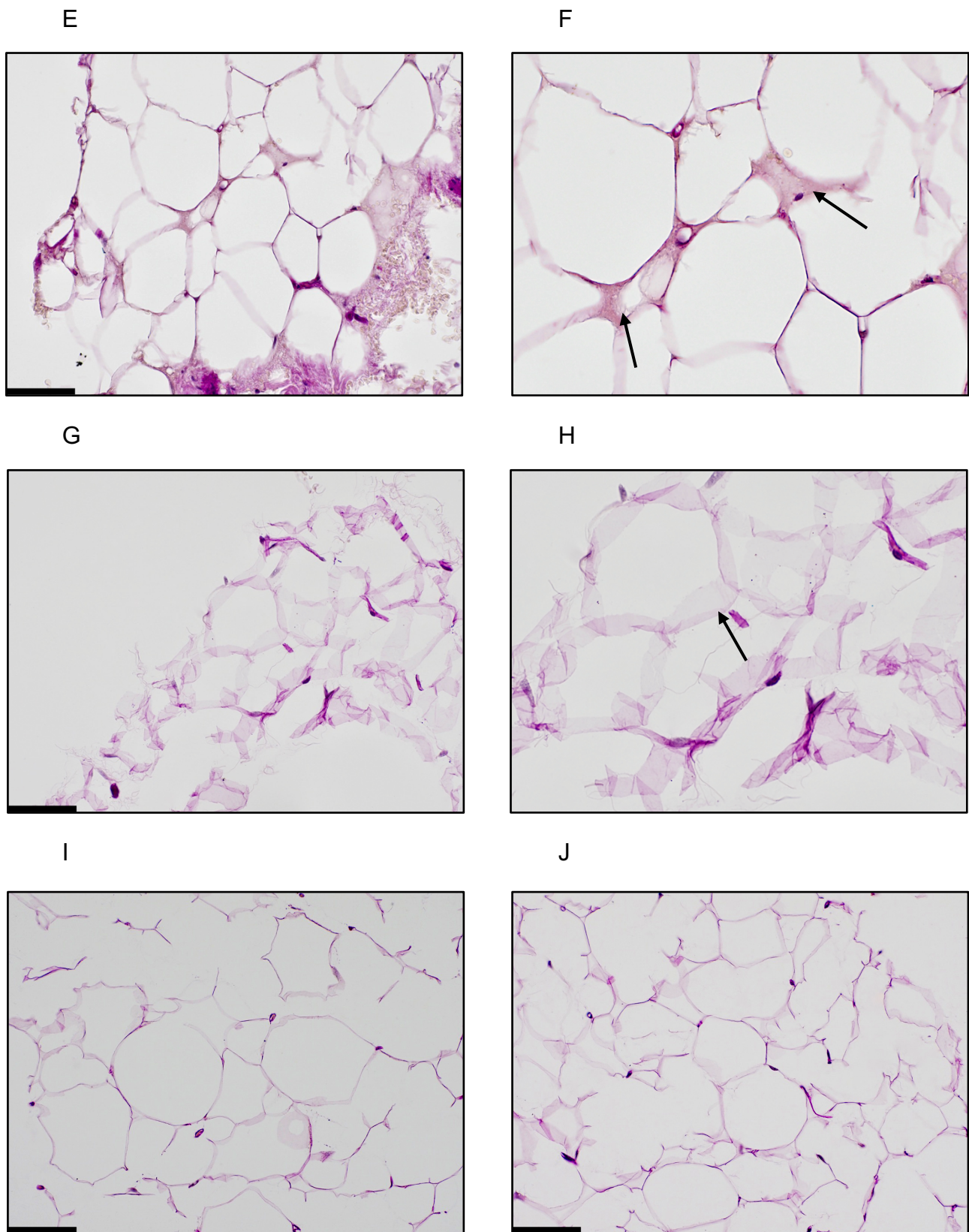


Abb. 18: Exemplarische Aufnahmen der Gewebeschnitte nach PAS-Färbung zur Darstellung der EZM; A-H: Lipödempatientinnen mit vergrößerten Bildausschnitten (B, D, F, H), mit Pfeilen markierte Bildausschnitte zeigen die gesteigerte Einlagerung von Matrixkomponenten; I-J: Kontrollen; BMI: A: 22,2 kg/m<sup>2</sup>, C: 34,4 kg/m<sup>2</sup>, E: 26,0 kg/m<sup>2</sup>, G: 24,0 kg/m<sup>2</sup>, I: 26,0 kg/m<sup>2</sup>, J: 24,0 kg/m<sup>2</sup>; Skalierungsbalken: 50 µm

Um die Einlagerung von Matrixkomponenten in der Bildanalyse zu quantifizieren, wurde in den einzelnen Aufnahmen der Durchmesser der EZM pro Sichtfeld in Mikrometern gemessen. Die Ergebnisse zeigten eine Variabilität sowohl zwischen der Lipödem- und Kontrollgruppe als auch innerhalb der Lipödemgruppe in den verschiedenen BMI-Kategorien.

In der statistischen Analyse wurde zunächst ein Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und der normalgewichtigen Lipödemgruppe durchgeführt (Abb. 19 a). Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,0001$ ) zwischen den beiden Gruppen, wobei die Medianwerte bei  $3,59 \mu\text{m}$  (Kontrollgruppe) und  $5,72 \mu\text{m}$  (Lipödemgruppe) lagen. Die Resultate stimmten mit den Beobachtungen aus der Lichtmikroskopie überein.

Um mögliche BMI-bezogene Veränderungen in der EZM der Lipödemgruppe zu untersuchen, wurde diese in drei Unterkategorien nach Körpergewicht unterteilt (Abb. 19 b). Es ergab sich kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,857$ ) zwischen den Untergruppen, wobei die Medianwerte bei  $5,6 \mu\text{m}$  (normalgewichtig),  $6,2 \mu\text{m}$  (übergewichtig) und  $6,0 \mu\text{m}$  (adipös) lagen.

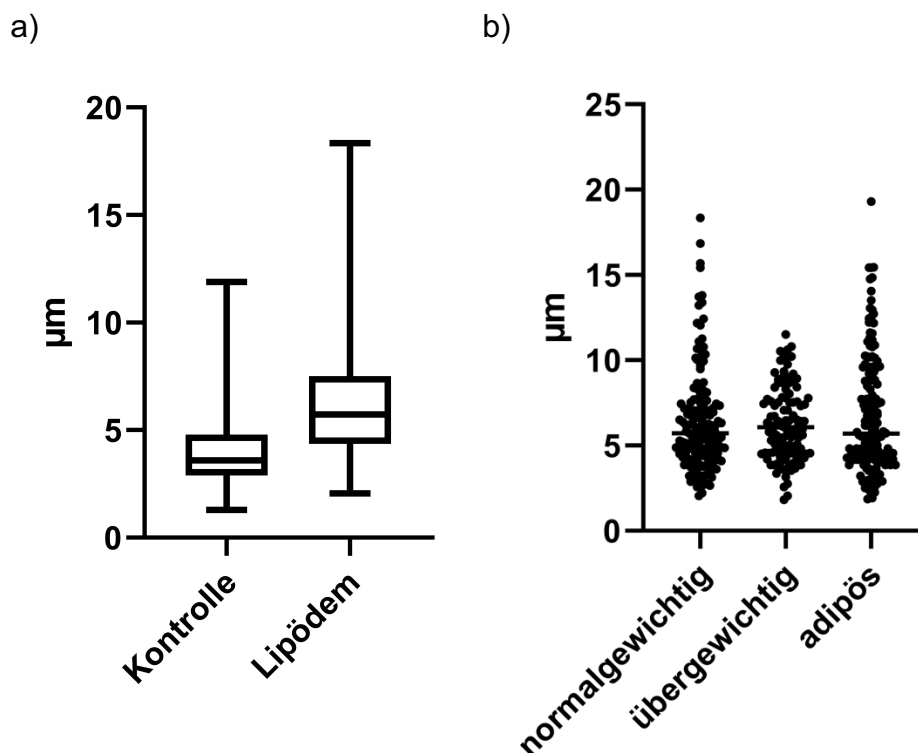


Abb. 19: Statistische Auswertung nach Ermittlung des EZM-Durchmessers in Mikrometern; a) normalgewichtige Lipödem- und Kontrollgruppe im Vergleich, Kontrolle (n=2); Lipödem (n=4); b) normal-, übergewichtige und adipöse Lipödempenderinnen im Vergleich; normalgewichtig (BMI  $< 25 \text{ kg/m}^2$ ; n=4); übergewichtig (BMI  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ; n=3); adipös (BMI  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ; n=4)

#### 4.2.2 Diskussion

Die Adipozyten des subkutanen Fettgewebes sind von interstitieller Flüssigkeit umgeben und in ein Netzwerk von Proteinen der EZM eingebettet, das die strukturelle Integrität gewährleistet (Rutkowski, Davis, & Scherer, 2009). Die extrazelluläre Matrix besteht aus einer Grundsubstanz, die sich unter anderem aus Proteoglykanen, Glykosaminoglykanen und Faseranteilen (elastisch, retikulär und kollagen) zusammensetzt (Aumailley & Gayraud, 1998). Das Lipödem ist eine Erkrankung des subkutanen Fettgewebes, die auch zu Veränderungen im interstitiellen Gewebe mit Fibrosierung führen kann (Herbst et al., 2020). Durch die Fibrosierung kommt es zu einer übermäßigen Einlagerung von Matrixbestandteilen (Wynn, 2008).

In der lichtmikroskopischen Analyse wurden EZM-Veränderungen in histologischen Präparaten mittels PAS-Färbung untersucht. Der Fokus lag dabei vor allem auf der verstärkten interstitiellen Einlagerung von Matrixproteinen zwischen den Adipozyten als Zeichen einer perizellulären Fibrosierung.

In der statistischen Analyse zeigte der Median der erhobenen EZM-Durchmesser einen um den Faktor 1,6 höheren Wert für die Gewebeschnitte der Lipödempatientinnen im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $p < 0,0001$ ). Diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen der Polarisationsmikroskopie überein. Sie deuten auf eine Veränderung der EZM hin, die mit einer verstärkten Anreicherung von Matrixbestandteilen im Rahmen einer Fibrosierung einhergeht. Die Ergebnisse werden durch vorherige Studien, welche Veränderungen der EZM beschrieben haben, gestützt (S. Al-Ghadban et al., 2020; Kruppa et al., 2023). Zusätzlich konnten Ishaq et al. bei Lipödempatientinnen eine veränderte Expression von Genen, die in Signalwegen der EZM involviert sind, zeigen (Ishaq et al., 2022).

In der vorliegenden Arbeit konnte kein BMI-assoziiertes signifikanter Unterschied zwischen den Lipödem-Untergruppen ermittelt werden ( $p > 0,05$ ). Ähnlich den Ergebnissen aus der Polarisationsmikroskopie scheint die Zunahme der Einlagerung von Matrixbestandteilen BMI-unabhängig zu sein. Auffällig waren hierbei die homogen ausgeprägten Medianwerte von 5,6  $\mu\text{m}$  (normalgewichtig), 6,2  $\mu\text{m}$  (übergewichtig) und 6,0  $\mu\text{m}$  (adipös) über alle drei BMI-Gruppen hinweg. Im Gegensatz dazu fanden sich sowohl in der normalgewichtigen als auch in der



adipösen Gruppe stark abweichende Maximalwerte von 18,3 µm (normalgewichtig) und 19,3 µm (adipös). Somit zeigten sich gewichtsunabhängig Areale mit deutlich ausgeprägten EZM-Einlagerungen. Die Gewebeschnitte der Kontrollgruppe wiesen deutlich niedrigere Maximalwerte auf, wobei der Höchstwert bei 11,9 µm lag.

Die Ergebnisse zeigen ähnlich den Resultaten der Polarisationsmikroskopie auf, dass pathophysiologische Prozesse zu mikroskopisch sichtbaren Veränderungen in der EZM führen können. Die signifikanten Unterschiede zwischen Lipödem- und Kontrollgruppe bestätigen erneut die Fibrosierung als eigenständiges Merkmal des Lipödems. Eine zahlenmäßige Zunahme des Durchmessers der EZM in Abhängigkeit vom BMI konnte nicht festgestellt werden. Vielmehr deuten die Ergebnisse insgesamt darauf hin, dass die Fibrosierung im Zusammenhang mit dem Lipödem sowohl bei normal- als auch übergewichtigen und adipösen Patientinnen auftreten kann. Die ermittelten Werte der BMI-bezogenen Analyse legen zudem nahe, dass es beim Lipödem zu einer unterschiedlich starken Ausprägung der Fibrosierung über sämtliche Gewichtsklassen hinwegkommen kann.

## 4.3 Immunfluoreszenz

### 4.3.1 Ergebnisse

In der mikroskopischen Untersuchung zeigte sich über beide Gewichtsklassen hinweg eine  $\alpha$ -SMA-Immunreaktivität entweder lokalisiert um den Zellkern oder diffus im Zytoplasma verteilt (Abb. 20, Pfeile). Die gezielte Färbung des f-Aktins mittels Phalloidin war ebenso in diversen Zellen beider Untergruppen deutlich erkennbar. Zudem erschien  $\alpha$ -SMA verstärkt in Stressfasern integriert, wie durch die Überlagerung von Phalloidin- und  $\alpha$ -SMA-Färbung zu erkennen ist (Abb 20, Stern). Das erhöhte Stressfaser-assoziierte  $\alpha$ -SMA konnte in Zellen beider Gewichtsklassen beobachtet werden. Im Gegensatz dazu waren Desminfilamente nur sporadisch nachweisbar. Die Zellen von 2 Spenderinnen zeigten keine Desmin-positiven Signale.

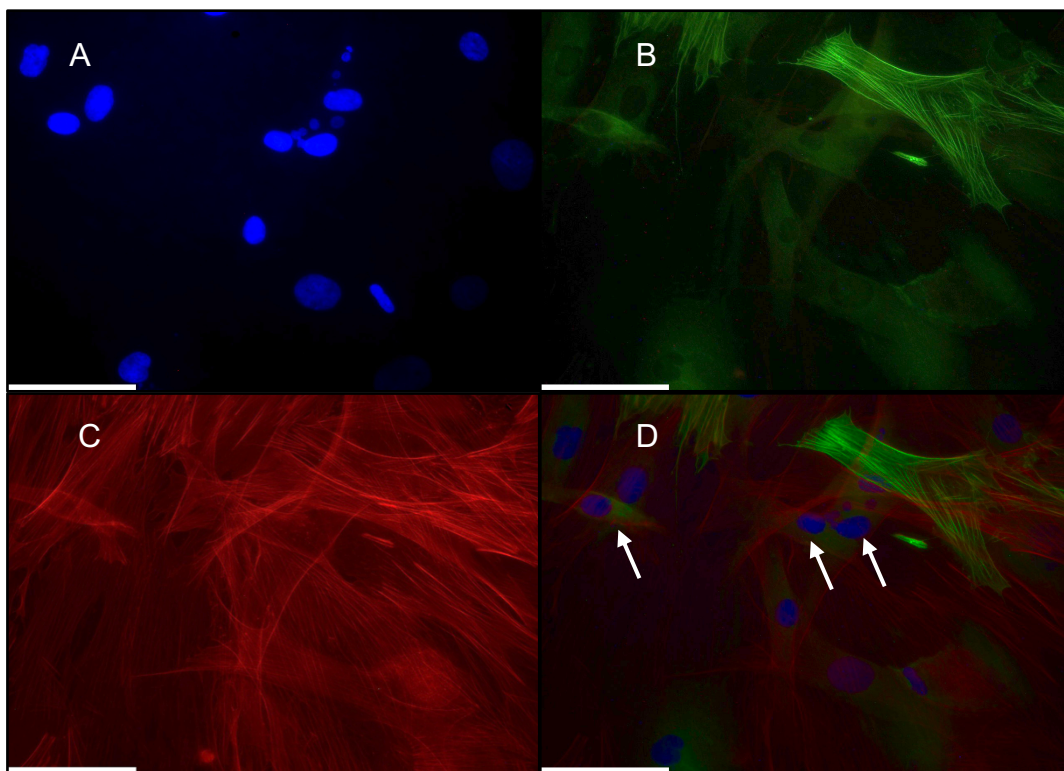


Abb. 20: Fluoreszenzmikroskopische Darstellung repräsentativer Färbungen von undifferenzierten Zellen; der jeweilige Antikörper ist in Grün bzw. Rot dargestellt; die Kerngegenfärbung erfolgte mit DAPI (blau); (A) DAPI; (B)  $\alpha$ -SMA; (C) Phalloidin; (D) überlagertes Bild; mit Pfeilen markierte Bildausschnitte zeigen  $\alpha$ -SMA-positive Zellen; Skalierungsbalken: 50  $\mu$ m

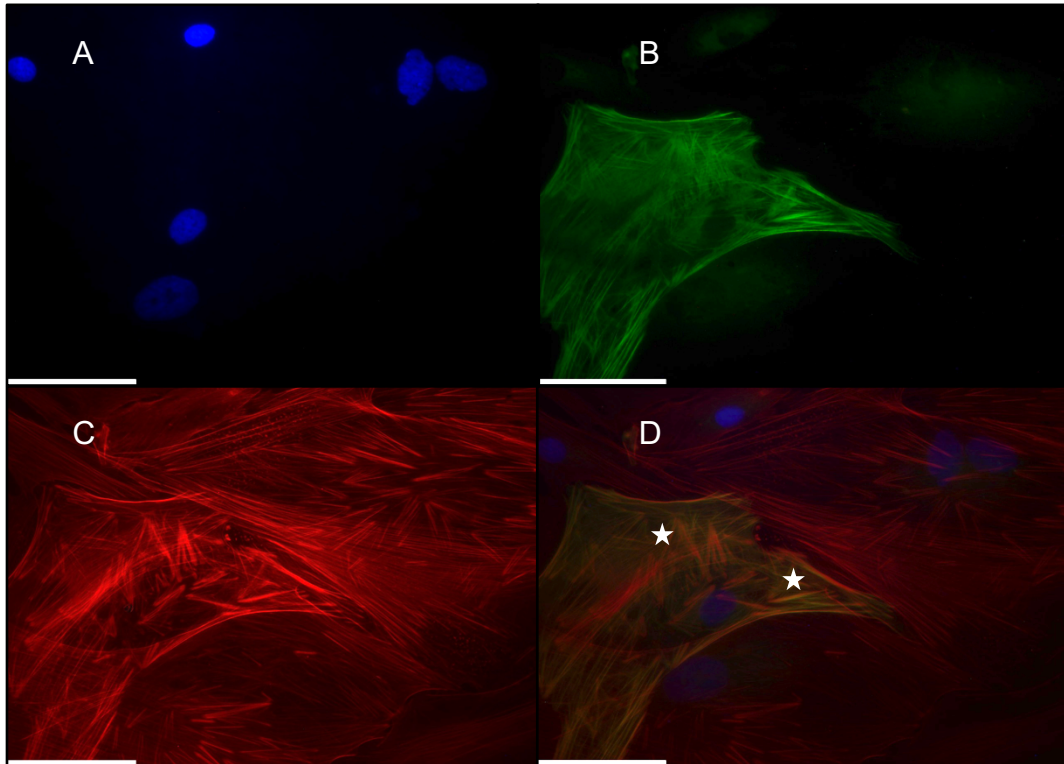


Abb. 21: Fluoreszenzmikroskopische Darstellung repräsentativer Färbungen von undifferenzierten Zellen; der jeweilige Antikörper ist in Grün bzw. Rot dargestellt; die Kerngegenfärbung erfolgte mit DAPI (blau); (A) DAPI; (B)  $\alpha$ -SMA; (C) Phalloidin; (D) überlagertes Bild; mit Pfeilen markierte Bildausschnitte zeigen  $\alpha$ -SMA-positive Zellen; mit Stern markierter Bildabschnitt zeigt Stressfaser-integriertes- $\alpha$ -SMA; Skalierungsbalken: 50  $\mu$ m

Des Weiteren wurde die Anwesenheit einer seltenen Zellklasse erfasst (siehe Abb. 21). Telozyten sind stromale Zellen und exprimieren CD34+ (Bani et al., 2010). Seit ihrer Entdeckung im Jahr 2010 wurden diese Zellen im Interstitium verschiedener Gewebe beschrieben, einschließlich des Fettgewebes (Popescu & Faussone-Pellegrini, 2010). Telozyten weisen charakteristischerweise mehrere lange Zytoplasmafortsätze mit weiteren Verzweigungen auf, sogenannte Telopoden und Podomere (Pellegrini & Popescu, 2011; Popescu & Faussone-Pellegrini, 2010). Die deutlichen und markanten Fortsätze strahlten wie in Abb. 21 zu sehen in mehrere Richtungen aus und zeigten teilweise einen ähnlichen Verlauf wie die umliegenden Aktinfilamente.

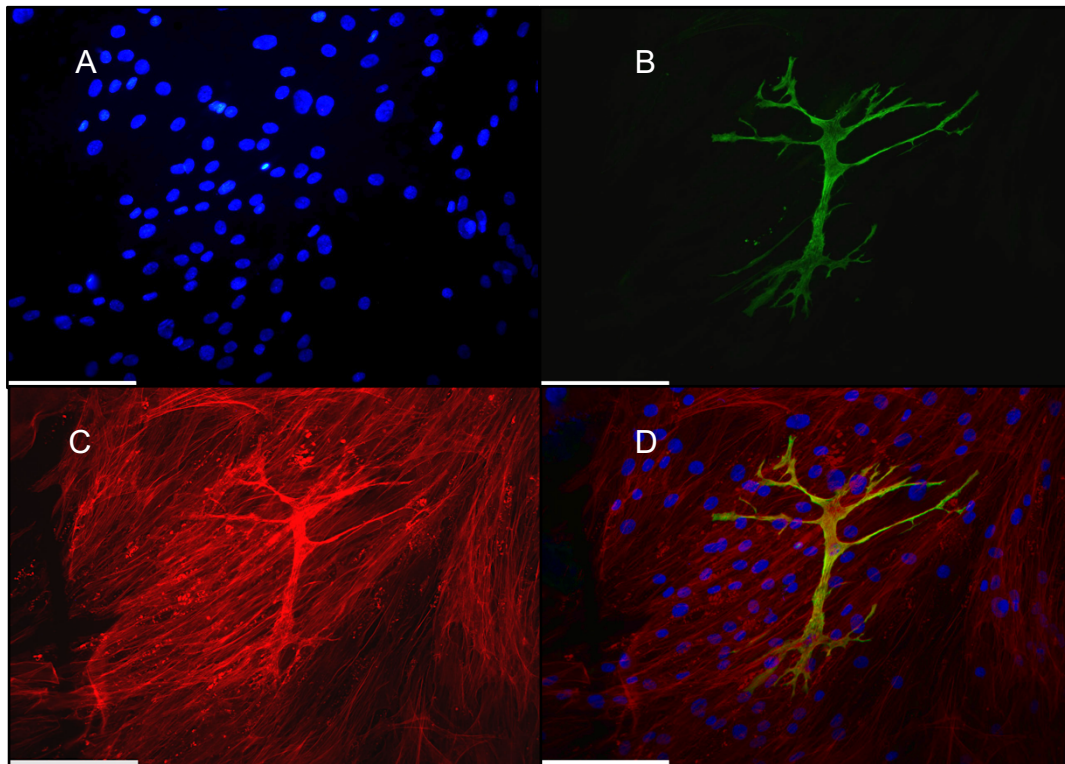


Abb. 22: Fluoreszenzmikroskopische Darstellung eines Telozyten; der jeweilige Antikörper ist in Grün bzw. Rot dargestellt; Kerngegenfärbung mit DAPI (blau); (A) DAPI; (B)  $\alpha$ -SMA; (C) Phalloidin; (D) überlagertes Bild; Skalierungsbalken: 50  $\mu$ m

Um einen Vergleich der Ergebnisse aus der immunhistochemischen Färbung zu ermöglichen, wurde der prozentuelle Anteil der positiven Zellen für  $\alpha$ -SMA-, Phalloidin- und  $\alpha$ -SMA- & Phalloidin an der Gesamtanzahl der erfassten Zellen bestimmt. In der statistischen Analyse wurden die Probandinnen anschließend nach ihrem Körpergewicht in zwei Untergruppen (normal- und übergewichtig) eingeteilt, um potenzielle BMI-bezogene Abweichungen zu erfassen (Abb. 22).

Beim Vergleich des prozentuellen Anteils positiver Zellen ergab sich kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ) zwischen der normal- und übergewichtigen Lipödemgruppe für die einzelnen Zelluntergruppen. Der Mittelwert für die Gesamtzahl positiver Zellen betrug 19,4% (normalgewichtig) und 22,1% (übergewichtig). Die  $\alpha$ -SMA-positiven Zellen zeigten Mittelwerte von 5,1% (normalgewichtig) und 8,4% (übergewichtig). Die Mittelwerte der Phalloidin-positiven Zellen lagen bei 10,0% (normalgewichtig) und 8,3% (übergewichtig). Für doppelmarkierte  $\alpha$ -SMA- und Phalloidin-positive Zellen ergaben sich Mittelwerte von 3,7% (normalgewichtig) und 3,4% (übergewichtig).

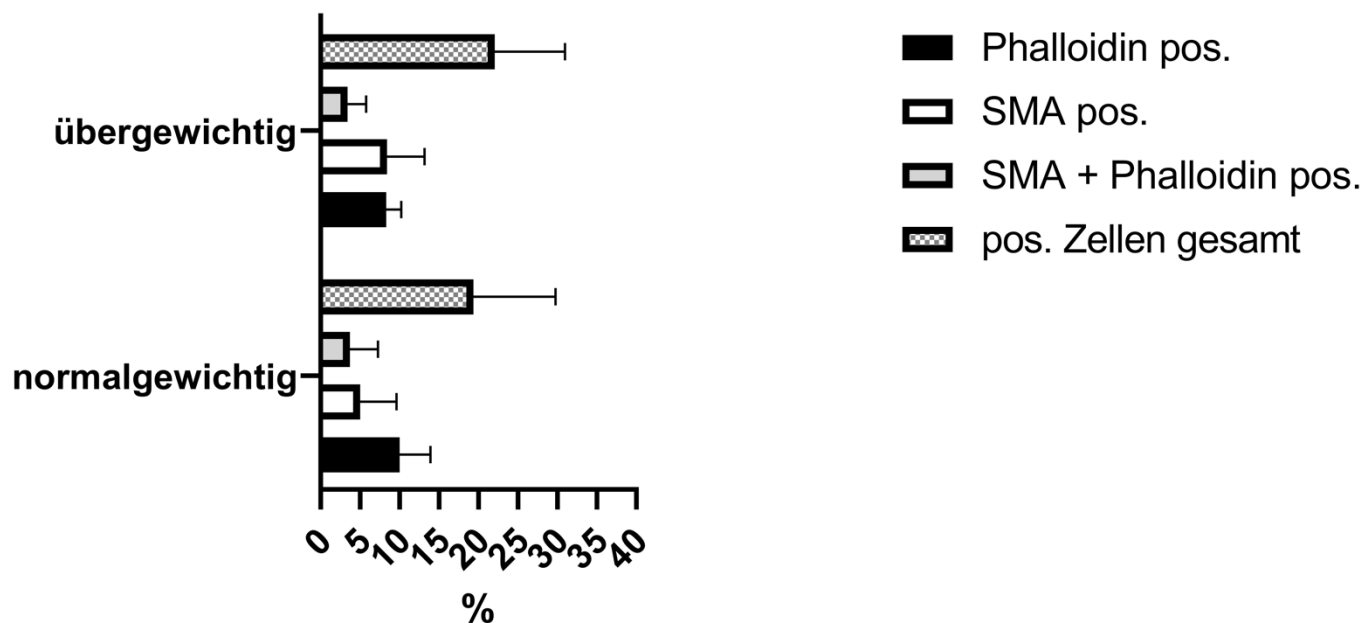


Abb. 23: Statistische Auswertung der Immunfluoreszenz mit prozentuellem Anteil positiver Zellen; normalgewichtig: BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>, n=3; übergewichtig: BMI ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>, n=3

Tab. 16: Auflistung der Lipödempatientinnen mit BMI, Anzahl an positiven Zellen und Gesamtanzahl ausgezählter Zellen

| Probandin | BMI                    | α-SMA + | Pha. + | α-SMA & Pha. + | Des. + | Zellen gesamt |
|-----------|------------------------|---------|--------|----------------|--------|---------------|
| 1         | < 25 kg/m <sup>2</sup> | 2       | 57     | 3              | 15     | 558           |
| 2         | < 25 kg/m <sup>2</sup> | 5       | 6      | 3              | 2      | 100           |
| 3         | < 25 kg/m <sup>2</sup> | 14      | 20     | 11             | 0      | 145           |
| 4         | ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> | 14      | 9      | 6              | 8      | 138           |
| 5         | ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> | 14      | 12     | 6              | 0      | 116           |
| 6         | ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> | 13      | 35     | 3              | 7      | 433           |

#### 4.3.2 Diskussion

Den Myofibroblasten wird eine wesentliche Rolle in der Fibrosierung zugeschrieben, da sie in aktivierter Form als primäre Produzenten von Kollagen agieren (Wynn, 2008). Diese Zellen entstammen verschiedenen Quellen wie mesenchymalen, endothelialen, epithelialen Zellen sowie fibroblastenähnlichen Zellen (Fibrozyten) aus Stammzellen (Bucala et al., 1994; Willis, duBois, & Borok, 2006). Ihre Aktivierung erfolgt durch unterschiedliche Mechanismen, darunter parakrine Signale von Lymphozyten und Makrophagen, pathogenassoziierte Moleküle sowie autokrine Faktoren anderer Myofibroblasten (Wynn, 2008). Ein besonderes Merkmal der Zellen liegt in ihrer Fähigkeit, bestimmte zytoskelettale Proteine zu kontrahieren, insbesondere  $\alpha$ -SMA (Jiroutová et al., 2005). Durch diese Eigenschaft können sie die Wundränder zusammenziehen und die physiologische Wundheilung beschleunigen (Cherng, Young, & Ma, 2008).

Aktin ist ein strukturelles Protein, das sich zu Aktinfilamenten polymerisiert und das Zytoskelett bildet, welches der Zelle mechanische Unterstützung bietet, ihre Form bestimmt und ihre Bewegung ermöglicht. Die einzelnen Untereinheiten von Aktin werden als globuläres Aktin bezeichnet, während das aus g-Aktin-Untereinheiten bestehende filamentöse Polymer als f-Aktin bezeichnet wird. (Wynn, 2008)

Die vorherrschende Aktin-Isoform in den glatten Muskelzellen der Blutgefäße ist  $\alpha$ -SMA (Jiroutová et al., 2005). Myofibroblasten integrieren diese Aktinform ebenfalls in kontraktile Aktinfilamentbündel, sogenannte Stressfasern, die neben  $\alpha$ -SMA auch aus f-Aktin bestehen und über Verbindungsproteine in fokale Adhäsionsrezeptoren der Zellmembran inserieren (Spektrum, 1999). Die Aktinfilamente können an diesen Kontaktstellen ziehen und ermöglichen so die Kontraktion (Spektrum, 1999). Die Expression von  $\alpha$ -SMA in Myofibroblasten korreliert dabei mit ihrer Aktivierung (Wynn, 2008).

Zur Charakterisierung der Zellen wurde immunhistochemisch die Expression spezifischer Zellmarker untersucht. Der Fokus lag hierbei vor allem auf BMI-bezogenen Expressionsunterschieden von normal- und übergewichtigen Lipödempatientinnen. In der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich über beide Gewichtsklassen hinweg  $\alpha$ -SMA- und Phalloidin-positive Zellen. Zudem konnte durch die Überlagerung der Einzelbilder aus der  $\alpha$ -SMA- und Phalloidin-

Färbung eine verstärkte Integration von  $\alpha$ -SMA in Stressfasern gezeigt werden (Abb. 20).

Die Ergebnisse stehen im Einklang mit einer kürzlich veröffentlichten Studie, die eine erhöhte Expression und Stressfaserintegration von  $\alpha$ -SMA in differenzierten Zellen von Lipödempatientinnen vor allem bei adipösen Spenderinnen beschrieb (Ernst et al., 2023).

In der statistischen Analyse zeigte der Vergleich von positiven Zellen der einzelnen Untergruppen zwischen den normal- und übergewichtigen Lipödempatientinnen keinen signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ). Mit 19,4% (normalgewichtig) und 22,1% (übergewichtig) ergaben sich für beide Gruppen ähnliche Mittelwerte für die Gesamtanzahl positiver Zellen. Es konnte in allen untersuchten Zellkulturen  $\alpha$ -SMA- und Phalloidin-positive Zellen nachgewiesen werden.

Die Integration von  $\alpha$ -SMA in Stressfasern gilt zusammen mit der Expression von CD31+ oder Cadherin und dem fehlenden Nachweis von Desmin als charakteristisches histologisches Merkmal von Myofibroblasten (Younesi et al., 2021). Obwohl in Bezug auf die BMI-bezogene Analyse kein signifikanter Unterschied zwischen den Untergruppen festgestellt werden konnte, zeigte sich in allen untersuchten Zellkulturen die Integration von  $\alpha$ -SMA in Stressfasern und somit ein histologischer Nachweis von Myofibroblasten.

Es besteht noch keine umfassende Klarheit über den Einfluss der Myofibroblasten auf die Entstehung und den Verlauf des Lipödems. Jedoch könnten sie vor allem bei der Entwicklung typischer Krankheitsanzeichen wie Spannungsgefühl, Schmerzentstehung und Fibrosierung eine zentrale Rolle einnehmen.

In der Immunfluoreszenzmikroskopie konnte die Anwesenheit einer  $\alpha$ -SMA- und Phalloidin-positiven Zellklasse detektiert werden (Abb. 21). Die immunhistologischen und morphologischen Merkmale entsprachen hierbei den bekannten, beschriebenen Eigenschaften von Telozyten (Bani et al., 2010; Pellegrini & Popescu, 2011; Popescu & Faussone-Pellegrini, 2010).

Telozyten sind stromale Zellen und exprimieren CD34 (Bani et al., 2010). Sie wurden seit ihrer Entdeckung im Interstitium verschiedener Gewebe beschrieben, einschließlich des Fettgewebes (Popescu & Faussone-Pellegrini, 2010). Im Fettgewebe sind Telozyten weitgehend in den Septen und in geringerem Maße in den intralobulären Regionen verteilt (Díaz-Flores et al., 2020). Je nach Lage erfüllen sie unterschiedliche Aufgaben. In intralobulären Regionen übernehmen sie eine funktionelle Rolle bei der interzellulären Kommunikation und Regulation des Mikromilieus (Cretoiu et al., 2016; Faussone Pellegrini & Popescu, 2011). In den Septen bilden diese Zellen ein Netzwerk aus, das die Zwischenräume der Kollagenfasern und unterschiedlich große Blutgefäße sowie lymphatische Gefäße umgibt (Díaz-Flores et al., 2020). Sie könnten möglicherweise auch eine regulierende Rolle in der Angiogenese und Anti-Fibrose einnehmen (Fu et al., 2016).

Es konnte in Studien gezeigt werden, dass Telozyten je nach Kulturbedingungen ihre Expression verändern und in mehrere Gewebebestandteile wie Adipozyten, Chondrozyten, Osteozyten und Myozyten differenzieren können (Braun et al., 2013; Díaz-Flores et al., 2020). Des Weiteren sind Telozyten in der Lage, je nach Entwicklungszustand und der Lokalisation in Bezug zu entzündlichen Prozessen selbst  $\alpha$ -SMA zu exprimieren und Myofibroblasten-ähnliche Aspekte anzunehmen (Díaz-Flores et al., 2020). Daher könnten sie im Fettgewebe als Quelle für stromale  $\alpha$ -SMA-positive Zellen mit Myofibroblasten-ähnlichen Eigenschaften dienen (Díaz-Flores et al., 2020).

Zudem konnte die Aktivierung und Beteiligung von Telozyten an hyperplastischen neurogenen Prozessen und der Entstehung von Neuomen beschrieben werden. Díaz-Flores et al. konnten die Zellen und ihre Fortsätze in mikroskopischen Untersuchungen im peripheren Nervensystem um Nervenfasern und ihre begleitenden Neurone zeigen. (Díaz-Flores et al., 2020)

Das Verhalten und die Funktion von Telozyten in pathologisch verändertem, subkutanen Fettgewebe ist noch nicht vollständig geklärt. Neben der Fibrosierung könnten sie insbesondere durch ihre Beteiligung an neurogenen Prozessen auch zur Entstehung typisch klinischer Merkmale des Lipödems wie Schmerzempfinden und Spannungsgefühl beitragen.



## 4.4 Zellmorphologische Analyse

### 4.4.1 Ergebnisse

Die zellmorphologische Analyse der ADSCs von Lipödempspenderinnen erfolgte in frühen Passagen (p0, p1). Innerhalb der Zellkulturen zeigte sich eine deutliche Heterogenität bezüglich der Zellmorphologie.

In der lichtmikroskopischen Darstellung breiteten sich die ADSCs normal- und übergewichtiger Lipödempatientinnen homogen auf der Oberfläche der Kulturgefäße aus und wuchsen zügig zu einem einschichtigen Zellrasen (Monolayer) heran. Es zeigte sich innerhalb der Zellkulturen eine Heterogenität bezüglich der Zellmorphologie. Die Zellen imponierten dabei spindelförmig mit langen Zellausläufern. Zudem zeigten sich auch flache, kieselsteinartige Zellen („cobblestone-like cells“). Es konnten ein- und mehrkernige Zellen beschrieben werden.

Die ADSCs von adipösen Lipödempatientinnen zeigten ebenfalls eine heterogene Morphologie mit spindelförmigem und teils kieselsteinartigem Aussehen. Auch hier fanden sich ein- und mehrkernige Zellen innerhalb der Zellkulturen. Allerdings konnte ein unterschiedliches Ausbreitungsmuster im Vergleich zu den ADSCs der normal- und übergewichtigen Gruppe beobachtet werden. Anstatt sich gleichmäßig auf der Oberfläche der Kulturflaschen auszubreiten, bildeten die ADSCs zunächst überwiegend Zellcluster aus und zeigten dadurch ein inselförmiges Wachstum. Erst nachdem mehrere Zellcluster ausgebildet waren, bildete sich eine durchgehende Zellschicht auf den Kulturflaschen aus. Diese Wachstumscharakteristik blieb während der frühen Passagen konstant, wodurch die Identifizierung der ADSCs von adipösen Lipödempatientinnen vereinfacht wurde.

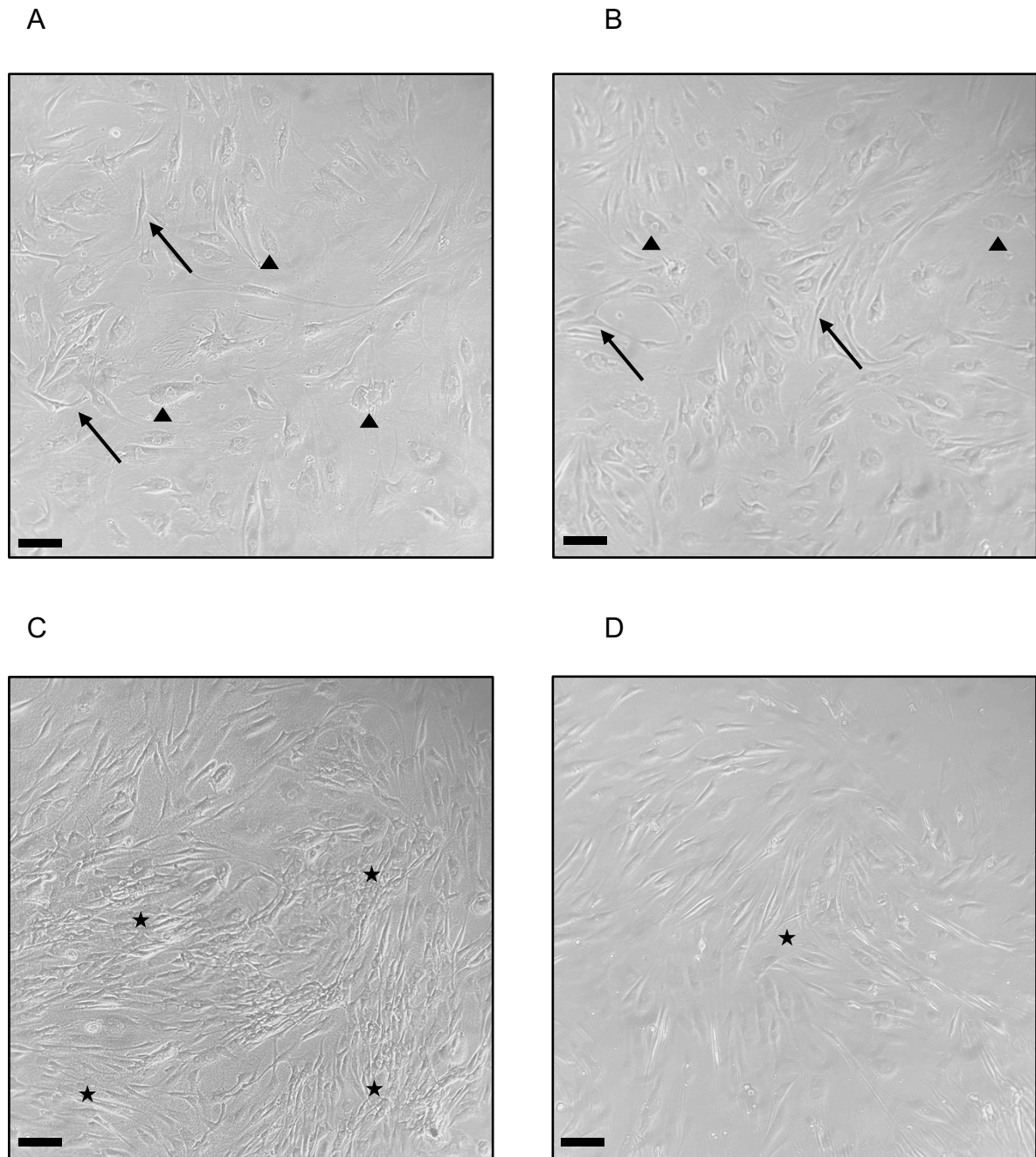


Abb. 24: Exemplarische Aufnahmen aus der zellmorphologischen Analyse nach 14 Tagen; A und B: ADSCs einer normalgewichtigen Lipödempatientin (BMI 22,2 kg/m<sup>2</sup>), mit Pfeilen markierte Bildausschnitte zeigen spindelförmige Zellen, mit Dreiecken markierte Bildausschnitte zeigen ein kieselsteinartiges Aussehen der Zellen; C und D: ADSCs einer adipösen Lipödempatientin (BMI: 38,2 kg/m<sup>2</sup>), mit Sternen markierte Bildausschnitte zeigen eine inselförmige Clusterbildung der Zellen, die über die frühen Passagen erhalten blieb; Skalierungsbalken 100 µm

#### 4.4.2 Diskussion

In der zellmorphologischen Analyse wurden die ADSCs von Lipödempatientinnen lichtmikroskopisch auf Konfluenz und spezifische Wachstumsmerkmale untersucht. Es wurden deutliche Unterschiede im Ausbreitungsmuster der Zellen zwischen den BMI-Gruppen festgestellt. Während sich die ADSCs der normal- und übergewichtigen Gruppe homogen auf der Kulturflaschenoberfläche verteilen, zeigten die Zellen der adipösen Gruppe vorwiegend eine Clusterbildung und ein inselförmiges Wachstum.

Eine Zellclusterbildung ist typischerweise gekennzeichnet durch die Proliferation von eng zusammenbleibenden Zellen, die zur Bildung mehrschichtiger Zellhaufen führt, anstatt sich homogen und einschichtig über die Oberfläche der Kulturflaschen zu verteilen.

Die Ergebnisse bestätigen die Beobachtungen einer kürzlich veröffentlichten Studie, in der ähnliche Wachstumsmuster der ADSCs von adipösen Spenderinnen beschrieben wurden. Ernst et al. zeigten ein vergleichbares inselförmiges Wachstum der ADSCs sowohl bei adipösen Lipödempatientinnen als auch bei adipösen Probandinnen der Kontrollgruppe (Ernst et al., 2023). Erst im Anschluss an die Ausbildung mehrerer Zellcluster konnte eine durchgehende Zellschicht der ADSCs beobachtet werden (Ernst et al., 2023).

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Muster der inselförmigen Ausbreitung mit der Bildung von Zellclustern ein charakteristisches Wachstumsmerkmal der ADSCs von adipösen Probandinnen sein könnte. Die Beobachtungen ermöglichen vor allem in Anbetracht der Ergebnisse von Ernst et al. den Schluss, dass die deutliche Clusterbildung hauptsächlich auf das Körpergewicht zurückzuführen sein könnte und nicht spezifisch mit dem Lipödem in Verbindung steht. Somit lässt sich daher zusammenfassend feststellen, dass die ADSCs von Lipödempenderinnen weder anhand ihres Wachstumsverhaltens noch anhand ihrer morphologischen Merkmale von Kontrollzellen unterschieden werden können.

Zusätzliche Studien sind notwendig, um die Ergebnisse der zellmorphologischen Analyse zu bestätigen und weitere typische Wachstumsmerkmale der ADSCs, insbesondere von Lipödempatientinnen aufzuzeigen.

## 4.5 Adipogene Differenzierung und Lipidbeladung

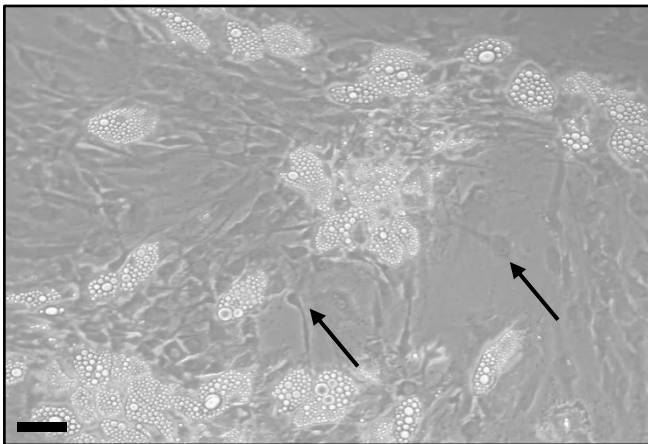
### 4.5.1 Ergebnisse

Die Analyse der adipogenen Differenzierung und Lipidbeladung erfolgte nach erfolgreicher Differenzierung und ORO-Färbung der kultivierten Zellen.

Abb. 24 zeigt repräsentative Aufnahmen des adipogenen Differenzierungsstatus von Zellen einer Patientin mit Lipödem. Bereits etwa 7 Tage nach Anregung zur adipogenen Differenzierung zeigte sich eine zytoplasmatische Ansammlung von Lipiden/Triglyceriden in Form von LDs. Im Verlauf änderte sich die Morphologie der Zellen zunehmend von einem spindelförmigen Aussehen hin zu einem adipozytenähnlichen Erscheinungsbild.

In der mikroskopischen Analyse zeigte sich insgesamt eine hohe Inter-Donor-Variabilität zwischen den einzelnen Zellkulturen der Lipödempatientinnen. Eine verstärkte zytoplasmatische Lipideinlagerung mit steigendem BMI konnte mikroskopisch nach ORO-Färbung nicht beobachtet werden.

a)



b)

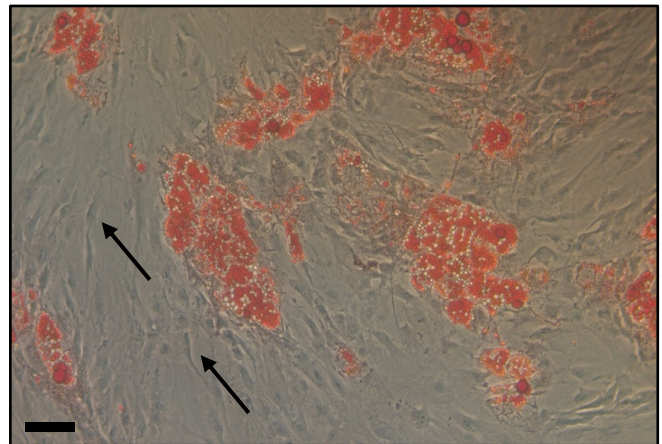


Abb. 25: Exemplarische Aufnahmen des Zelldifferenzierungsstatus einer Lipödempatientin nach 21 Tagen; die Zellen zeigen eine deutliche zytoplasmatische Einlagerung von Lipiden/Triglyceriden und eine veränderte Zellmorphologie; mit Pfeilen markierte Bildausschnitte zeigen nicht-adipogene Fibroblasten; a) native Aufnahme; b) ORO-Färbung; Skalierungsbalken 100  $\mu\text{m}$

#### 4.5.2 Diskussion

In der mikroskopischen Analyse wurde die Einlagerung von Lipiden/Triglyceriden in differenzierten Zellen von Patientinnen mit Lipödem untersucht. Bereits ab dem 7. Tag nach Anregung der adipogenen Differenzierung war eine Lipideinlagerung erkennbar und im weiteren Verlauf änderte sich die Zellmorphologie zu einem adipozytenähnlichen Aussehen. Es wurde keine gesteigerte Lipideinlagerung mit zunehmendem BMI der Lipödem-Patientinnen beobachtet.

Diese Ergebnisse sind konsistent mit früheren Studien, die das adipogene Potenzial differenzierter Zellen von Lipödem-Patientinnen analysierten (Bauer et al., 2019; Ernst et al., 2023). Ernst et al. beobachteten zusätzlich mittels ORO-Färbung und photometrischer Messung eine reduzierte Differenzierungsfähigkeit der Zellen sowohl in der Lipödem- als auch in der Kontrollgruppe bei steigendem BMI (Ernst et al., 2023).

Die Ergebnisse legen nahe, dass das Körpergewicht der Probandinnen einen deutlichen Einfluss auf die adipogene Differenzierung der Präadipozyten hat und diese bei höherem BMI sogar negativ beeinflussen kann.

Von besonderem Interesse ist zudem die Beobachtung, dass neben adipogenen Fibroblasten auch ein erheblicher Anteil an nicht-adipogenen Fibroblasten (Abb. 23, mit Pfeilen markiert) in den Kulturen zu finden ist. Die Rolle dieser Zellen ist bisher noch nicht geklärt. Es besteht die Möglichkeit, dass sie an der erhöhten Lipödem-assoziierten Fibrosierung beteiligt sind. Insofern sollte in zukünftigen Studien ein Augenmerk auf die noch teilungsfähigen nicht-adipogenen Fibroblasten gelegt werden, da sie das Krankheitsbild des Lipödems unter Umständen maßgeblich beeinflussen könnten.

## 4.6 Limitationen der Studie

Wie schon in vorausgehenden Studien beschrieben zeigten auch in dieser Studie die Ergebnisse der BMI-bezogenen Analyse von Lipödempatientinnen eine hohe Inter-Donor-Variabilität (Ernst et al., 2023). Diese könnte durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Dazu gehören unter anderem:

- Patientinnenalter

In der aktuellen Fachliteratur herrscht Konsens darüber, dass hormonelle Veränderungen eine bedeutende Rolle bei Entstehung und Fortschreiten des Lipödems spielen können (Herbst, 2012; Szél et al., 2014). Um vergleichbare hormonelle Voraussetzungen der Probandinnen zu gewährleisten, ist es aus diesem Grund von Vorteil, das Altersspektrum der Kohorte einzugrenzen (Ernst et al., 2022). Zudem kann das biologische Alter die Zellbeschaffenheit und -eigenschaften beeinflussen. Somit könnten physiologische Alterationen, die mit dem Alter einhergehen, auch einen Einfluss auf die beschriebenen Gewebeveränderungen und folglich die Ergebnisse haben.

Es wurde bei der Kohortenauswahl für diese Studie auf ein ähnliches Patientinnenalter geachtet. Insgesamt wurden 22 Probandinnen mit Lipödem und 4 Nicht-Lipödem-Kontrollen eingeschlossen. Zum Zeitpunkt der Probengewinnung betrug das durchschnittliche Alter  $32 \pm 9$  Jahre. In zukünftigen Studien könnte eine noch engere Altersstruktur dazu beitragen, die Inter-Donor-Variabilität zu verringern.

- Krankheitsstadium

Eine kürzlich veröffentlichte Studie beschrieb einen direkten Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Fibrosierung und dem Krankheitsstadium der untersuchten Patientinnen (Kruppa et al., 2023). Somit könnte das spezifische Stadium der Erkrankung auch einen Einfluss auf die Ergebnisse dieser Studie haben.

Die Kohorte dieser Studie umfasste insgesamt 22 Lipödempatientinnen. Um möglichst gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen und potenzielle Überlagerungen mit anderen Krankheitsbildern zu vermeiden, wurden nur Patientinnen mit Stadium I und II in die Studie eingeschlossen. In zukünftigen

Studien könnte es dennoch von Vorteil sein, selektiv Patientinnen gleicher Stadien zu vergleichen, um krankheitsspezifische Merkmale bestmöglich beschreiben zu können.

- Körpergewicht und BMI

Das Lipödem tritt vor allem in fortgeschrittenem Stadium gehäuft mit Gewichtszunahme oder Adipositas auf (Ghods et al., 2020). Das Körpergewicht hat zahlreiche Einflüsse auf histologische und zellbiologische Eigenschaften. Daher kann die Interpretation von Studiendaten, die alle BMI-Gruppen in der Spenderpopulation einschließen, erschwert werden (Ernst et al., 2022). Zudem wird schon länger diskutiert, ob die Erfassung des BMIs ein geeignetes Mittel zur Klassifizierung der Lipödempatientinnen ist und die Disproportionalität zwischen Körperstamm und Extremitäten korrekt abbildet ((ORDE), 2014; Reich-Schupke et al., 2017).

Um mögliche Fehlerquellen zu minimieren, wurden in dieser Studie nur Lipödempatientinnen mit Stadium I und II eingeschlossen. Zudem wurden nur normalgewichtige Lipödempatientinnen ( $\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$ ) mit der Kontrollgruppe verglichen, da die Probandinnen dieser Gruppe ebenfalls einen normalgewichtigen BMI vorzeigten. Dennoch erfolgte die Einteilung der Patientinnen in die Untergruppen nur anhand ihres BMIs. In zukünftigen Studien könnten zudem noch weitere klinische Parameter wie das Verhältnis von Taille zu Hüfte („Waist-Hip-Ratio“) oder von Hüfte zu Körpergröße („Waist-Height-Ratio“) berücksichtigt werden, um aussagekräftigere Ergebnisse ermitteln zu können.

- Lokalisation der Biopsieentnahme

Für diese Studie wurden ausschließlich Gewebebiopsien verwendet, die aus der unteren Extremität von Lipödempatientinnen stammten. Der Hauptteil der Biopsien wurde aus dem medialen und lateralen Oberschenkel entnommen, wobei auch Proben aus dem Unterschenkel einbezogen wurden. Kruppa et al. konnten ein unterschiedliches Ausmaß der Fibrosierung in Abhängigkeit der Lokalisation des untersuchten Gewebes zeigen. Innerhalb der Lipödemgruppe wurde ein signifikanter Unterschied zwischen entnommenen Gewebebiopsien des unteren Abdomens und der Oberschenkelregion beschrieben (Kruppa et al.,

2023). Bisher liegen aus aktuellen Studien keine Ergebnisse vor, die auf eine unterschiedliche Ausprägung der Fibrosierung zwischen Ober- und Unterschenkelregion hinweisen. Dennoch könnte die Lokalisation des entnommenen Gewebes Auswirkungen auf die Ergebnisse haben.

- Entnahmetechnik

Es kann angenommen werden, dass die Entnahmetechnik des/der Operateurs/-in den Zustand der entnommenen Proben entscheidend beeinflussen kann. Veränderte Entnahmetechniken können somit zu variablen Ergebnissen führen.

- Auswahl der Kontrollgruppe

Die Auswahl einer geeigneten Kontrollgruppe stellt eine große Herausforderung in der Lipödemforschung dar. Viele Studien wählen Kontrollkohorten basierend auf Kriterien wie Alter und BMI aus. Es ist anzunehmen, dass auch Frauen ohne Lipödem, die sich einer kosmetischen Liposuktion unterziehen, unter einer generalisierten oder lokalen Fettgewebsvermehrung leiden könnten. Ursachen dafür wären beispielsweise Übergewicht, Adipositas oder Lipohypertrophie. Es besteht die Möglichkeit, dass Krankheitsbilder wie Lipohypertrophie und Lipödem ähnliche molekulare Mechanismen teilen, wodurch die Bewertung und Interpretation der gesammelten Daten erschwert werden könnte. (Ernst et al., 2022)

Jeder der genannten Faktoren kann die Inter-Donor-Variabilität beeinflussen und sollte in nachfolgenden Studien berücksichtigt werden. Zukünftige Untersuchungen sollten deshalb darauf abzielen, Kohorten mit möglichst ähnlichen Kriterien bezüglich der oben genannten Faktoren zu selektieren, um aussagekräftige Ergebnisse zu ermitteln und potenzielle Fehlerquellen zu minimieren.

Das Ziel dieser Arbeit war es vor allem, einen Trend in Bezug der einzelnen Fragestellungen zu erkennen. Es ist wichtig zu betonen, dass weitere Studien notwendig sind, um die oben genannten Ergebnisse zu bestätigen und ein tieferes Verständnis für die pathophysiologischen Zusammenhänge zu entwickeln.



## Literaturverzeichnis

- (DAG), D. A. G. (2014). Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Prävention und Therapie der Adipositas. In *S3-Leitlinie*.
- (ORDE), D. S. f. D. a. V. a. t. D. A. o. m. s. (2014). Lipedema guidelines in the Netherlands. In.
- Al-Ghadban, S., Cromer, W., Allen, M., Ussery, C., Badowski, M., Harris, D., & Herbst, K. L. (2019). Dilated Blood and Lymphatic Microvessels, Angiogenesis, Increased Macrophages, and Adipocyte Hypertrophy in Lipedema Thigh Skin and Fat Tissue. *J Obes*, 2019, 8747461. <https://doi.org/10.1155/2019/8747461>
- Al-Ghadban, S., Diaz, Z. T., Singer, H. J., Mert, K. B., & Bunnell, B. A. (2020). Increase in Leptin and PPAR- $\gamma$  Gene Expression in Lipedema Adipocytes Differentiated in vitro from Adipose-Derived Stem Cells. *Cells*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/cells9020430>
- Al-Ghadban, S., Pursell, I. A., Diaz, Z. T., Herbst, K. L., & Bunnell, B. A. (2020). 3D Spheroids Derived from Human Lipedema ASCs Demonstrated Similar Adipogenic Differentiation Potential and ECM Remodeling to Non-Lipedema ASCs In Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21).
- Allen, E., & Hines, E. (1940). Lipedema of the legs: a syndrome characterized by fat legs and orthostatic edema. *Proc Staff Meet Mayo Clin*, 15, 184–187.
- Allen, M., Schwartz, M., & Herbst, K. L. (2020). Interstitial Fluid in Lipedema and Control Skin. *Womens Health Rep (New Rochelle)*, 1(1), 480-487. <https://doi.org/10.1089/whr.2020.0086>
- Amann, E. M., Rojewski, M. T., Wuchter, P., Bönig, H., Schäfer, R., Appl, T., Schrezenmeier, H., & Bieback, K. (2020). Klinische Einsatzmöglichkeiten von Mesenchymalen Stromazellen. *Hämotherapie*, 35.
- Amann-Vesti, B. R., Franzeck, U. K., & Bollinger, A. (2001). Microlymphatic aneurysms in patients with lipedema. *Lymphology*, 34(4), 170-175.
- Arcidiacono, B., Chiefari, E., Laria, A. E., Messineo, S., Bilotta, F. L., Britti, D., Foti, D. P., Foryst-Ludwig, A., Kintscher, U., & Brunetti, A. (2017). Expression of matrix metalloproteinase-11 is increased under conditions of insulin resistance. *World J Diabetes*, 8(9), 422-428. <https://doi.org/10.4239/wjd.v8.i9.422>
- Aumailley, M., & Gayraud, B. (1998). Structure and biological activity of the extracellular matrix. *J Mol Med (Berl)*, 76(3-4), 253-265. <https://doi.org/10.1007/s001090050215>
- Baganha, F., Schipper, R., & Hagberg, C. E. (2022). Towards better models for studying human adipocytes in vitro. *Adipocyte*, 11(1), 413-419. <https://doi.org/10.1080/21623945.2022.2104514>
- Bani, D., Formigli, L., Gherghiceanu, M., & Fausone-Pellegrini, M.-S. (2010). Telocytes as supporting cells for myocardial tissue organization in developing and adult heart. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(10), 2531-2538. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01119.x>
- Bauer, A. T., von Lukowicz, D., Lossagk, K., Hopfner, U., Kirsch, M., Moog, P., Bauer, H., Machens, H. G., & Schmauss, D. (2019). Adipose Stem Cells from Lipedema and Control Adipose Tissue Respond Differently to Adipogenic Stimulation In Vitro. *Plast Reconstr Surg*, 144(3), 623-632. <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000005918>

- Baumgartner, A. (2014). Operative Therapie – Notwendigkeit oder Luxus? *Vasomed*, 26, 238.
- Baumgartner, A., Hüppe, M., & Schmeller, W. (2015). Wie lange profitieren Lipödempatientinnen von der Liposuktion? Eine Nachuntersuchung nach durchschnittlich vier und acht Jahren. *Lymphologie in Forschung und Praxis*, 19 (4), 8-14.
- Bertsch, T., & Erbacher, G. (2018a). Lipödem – Mythen und Fakten Teil 1. *Phlebologie*, 2, 84-92.
- Bertsch, T., & Erbacher, G. (2018b). Lipödem – Mythen und Fakten Teil 2. *Phlebologie*, 3, 120-126.
- Bertsch, T., & Erbacher, G. (2018c). Lipödem – Mythen und Fakten Teil 3. *Phlebologie*, 4, 188-198.
- Bertsch, T., Erbacher, G., & Elwell, R. (2020). Lipoedema: a paradigm shift and consensus. *J Wound Care*, 29(Sup11b), 1-51. <https://doi.org/10.12968/jowc.2020.29.Sup11b.1>
- Bharati, S., Anjaly, K., Thoidingjam, S., & Tiku, A. B. (2022). Oil Red O based method for exosome labelling and detection. *Biochem Biophys Res Commun*, 611, 179-182. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.04.087>
- Bilancini, S., Lucchi, M., Tucci, S., & Eleuteri, P. (1995). Functional Lymphatic Alterations in Patients Suffering from Lipedema. *Angiology*, 46(4), 333-339. <https://doi.org/10.1177/000331979504600408>
- Birkballe, S., Jensen, M. R., Noerregaard, S., Gottrup, F., & Karlsmark, T. (2014). Can tissue dielectric constant measurement aid in differentiating lymphoedema from lipoedema in women with swollen legs? *Br J Dermatol*, 170(1), 96-102. <https://doi.org/10.1111/bjd.12589>
- Blum, H. E. e. a. (2020). 21 Lymphsystem. In *Klinische Pathophysiologie* (11., unveränderte Auflage ed.). Georg Thieme Verlag KG. <https://doi.org/10.1055/b-0041-180136>
- Bollinger, A. (1993). Microlymphatics of human skin. *Int J Microcirc Clin Exp*, 12(1), 1-15.
- Bora, P., & Majumdar, A. S. (2017). Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation. *Stem Cell Res Ther*, 8(1), 145. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0598-y>
- Bosy-Westphal, A., Schautz, B., Lagerpusch, M., Pourhassan, M., Braun, W., Goele, K., Heller, M., Glüer, C. C., & Müller, M. J. (2013). Effect of weight loss and regain on adipose tissue distribution, composition of lean mass and resting energy expenditure in young overweight and obese adults. *Int J Obes (Lond)*, 37(10), 1371-1377. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.1>
- Brauer, W. J., & Brauer, V. S. (2005). Altersabhängigkeit des Lymphtransportes bei Lipödem und Lipolymphödem. *LymphForsch*, 9, 6-9.
- Braun, J., Kurtz, A., Barutcu, N., Bodo, J., Thiel, A., & Dong, J. (2013). Concerted regulation of CD34 and CD105 accompanies mesenchymal stromal cell derivation from human adventitial stromal cell. *Stem Cells Dev*, 22(5), 815-827. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0263>
- Bruns, F., Micke, O., & Bremer, M. (2003). Current status of selenium and other treatments for secondary lymphedema. *J Support Oncol*, 1(2), 121-130.
- Bucala, R., Spiegel, L. A., Chesney, J., Hogan, M., & Cerami, A. (1994). Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med*, 1(1), 71-81.

- Bunnell, B. A. (2021). Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cells*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/cells10123433>
- Cherng, S., Young, J., & Ma, H. (2008). Alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA). *J Am Sci*, 4.
- Child, A. H., Gordon, K. D., Sharpe, P., Brice, G., Ostergaard, P., Jeffery, S., & Mortimer, P. S. (2010). Lipedema: an inherited condition. *Am J Med Genet A*, 152a(4), 970-976. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33313>
- Ciervo, Y., Ning, K., Jun, X., Shaw, P. J., & Mead, R. J. (2017). Advances, challenges and future directions for stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Neurodegener*, 12(1), 85. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0227-3>
- Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., Wang, S., Fortier, M., Greenberg, A. S., & Obin, M. S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res*, 46(11), 2347-2355. <https://doi.org/10.1194/jlr.M500294-JLR200>
- Conley, S. M., Bruhn, R. L., Morgan, P. V., & Stamer, W. D. (2004). Selenium's effects on MMP-2 and TIMP-1 secretion by human trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 45(2), 473-479. <https://doi.org/10.1167/iovs.03-0767>
- Connell, F. C., Gordon, K., Brice, G., Keeley, V., Jeffery, S., Mortimer, P. S., Mansour, S., & Ostergaard, P. (2013). The classification and diagnostic algorithm for primary lymphatic dysplasia: an update from 2010 to include molecular findings. *Clin Genet*, 84(4), 303-314. <https://doi.org/10.1111/cge.12173>
- Cornely, M., & Dr. Gensior, M. (2014). Update lipedema 2014: Cologne lipedema study. 18, 66-71.
- Cretoiu, D., Xu, J., Xiao, J., & Cretoiu, S. M. (2016). Telocytes and Their Extracellular Vesicles-Evidence and Hypotheses. *Int J Mol Sci*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/ijms17081322>
- Curri, S. B., & Merlen, J. F. (1986). [Microvascular disorders of adipose tissue]. *J Mal Vasc*, 11(3), 303-309. (Troubles microvasculaires du tissu adipeux.)
- Deri, G., & Weissleder, H. (1997). Vergleichende prä- und posttherapeutische Volumenmessungen in Beinsegmenten beim Lipödem. *LymphForsch*, 1: 35-37.
- Díaz-Flores, L., Gutiérrez, R., García, M. P., González-Gómez, M., Carrasco, J. L., Alvarez-Argüelles, H., & Díaz-Flores, L., Jr. (2020). Telocytes/CD34+ Stromal Cells in Pathologically Affected White Adipose Tissue. *Int J Mol Sci*, 21(24). <https://doi.org/10.3390/ijms21249694>
- Dietzel, R., Reissauer, A., Jahr, S., Calafiore, D., & Armbricht, G. (2015). Body composition in lipoedema of the legs using dual-energy X-ray absorptiometry: a case-control study. *Br J Dermatol*, 173(2), 594-596. <https://doi.org/10.1111/bjd.13697>
- Dimakakos, P. B., Stefanopoulos, T., Antoniadis, P., Antoniou, A., Gouliamos, A., & Rizos, D. (1997). MRI and ultrasonographic findings in the investigation of lymphedema and lipedema. *Int Surg*, 82(4), 411-416.
- Ducharme, N. A., & Bickel, P. E. (2008). Minireview: Lipid Droplets in Lipogenesis and Lipolysis. *Endocrinology*, 149(3), 942-949. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1713>
- Duewell, S., Hagspiel, K. D., Zuber, J., von Schulthess, G. K., Bollinger, A., & Fuchs, W. A. (1992). Swollen lower extremity: role of MR imaging.

- Radiology*, 184(1), 227-231.  
<https://doi.org/10.1148/radiology.184.1.1609085>
- Duhon, B. H., Phan, T. T., Taylor, S. L., Crescenzi, R. L., & Rutkowski, J. M. (2022). Current Mechanistic Understandings of Lymphedema and Lipedema: Tales of Fluid, Fat, and Fibrosis. *Int J Mol Sci*, 23(12).  
<https://doi.org/10.3390/ijms23126621>
- Dykstra, J. A., Facile, T., Patrick, R. J., Francis, K. R., Milanovich, S., Weimer, J. M., & Kota, D. J. (2017). Concise Review: Fat and Furious: Harnessing the Full Potential of Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction. *Stem Cells Transl Med*, 6(4), 1096-1108. <https://doi.org/10.1002/sctm.16-0337>
- Ernst, A. M., Bauer, H., Bauer, H. C., Steiner, M., Malfetherheiner, A., & Lipp, A. T. (2022). Lipedema Research-Quo Vadis? *J Pers Med*, 13(1).  
<https://doi.org/10.3390/jpm13010098>
- Ernst, A. M., Steiner, M., Kainz, V., Tempfer, H., Spitzer, G., Plank, T., Bauer, H. C., Bresgen, N., Habenbacher, A., Bauer, H., & Lipp, A. T. (2023). "Lipedema: The use of cultured adipocytes for identification of diagnostic markers". *Plast Reconstr Surg*.  
<https://doi.org/10.1097/PRS.00000000000010392>
- Escobedo, N., & Oliver, G. (2017). The Lymphatic Vasculature: Its Role in Adipose Metabolism and Obesity. *Cell Metabolism*, 26(4), 598-609.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.07.020>
- Fasshauer, M., Klein, J., Blüher, M., & Paschke, R. (2004). Adipokine: Mögliches Bindeglied zwischen Insulinresistenz und Adipositas. *Dtsch Ärzteblatt*, 101: A3491 ± A3495.
- Faussone Pellegrini, M. S., & Popescu, L. M. (2011). Telocytes. *Biomol Concepts*, 2(6), 481-489. <https://doi.org/10.1515/bmc.2011.039>
- Fekete, N., Rojewski, M. T., Fürst, D., Kreja, L., Ignatius, A., Dausend, J., & Schrezenmeier, H. (2012). GMP-compliant isolation and large-scale expansion of bone marrow-derived MSC. *PLoS One*, 7(8), e43255.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043255>
- Felmerer, G., Stylianaki, A., Hägerling, R., Wang, A., Ströbel, P., Hollmén, M., Lindenblatt, N., & Gousopoulos, E. (2020). Adipose Tissue Hypertrophy, An Aberrant Biochemical Profile and Distinct Gene Expression in Lipedema. *J Surg Res*, 253, 294-303.  
<https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.03.055>
- Felmerer, G., Stylianaki, A., Hollmén, M., Ströbel, P., Stepniewski, A., Wang, A., Frueh, F. S., Kim, B. S., Giovanoli, P., Lindenblatt, N., & Gousopoulos, E. (2020). Increased levels of VEGF-C and macrophage infiltration in lipedema patients without changes in lymphatic vascular morphology. *Sci Rep*, 10(1), 10947. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67987-3>
- Fife, C. E., Maus, E. A., & Carter, M. J. (2010). Lipedema: a frequently misdiagnosed and misunderstood fatty deposition syndrome. *Adv Skin Wound Care*, 23(2), 81-92; quiz 93-84.  
<https://doi.org/10.1097/01.Asw.0000363503.92360.91>
- Fildes, A., Charlton, J., Rudisill, C., Littlejohns, P., Prevost, A. T., & Gulliford, M. C. (2015). Probability of an Obese Person Attaining Normal Body Weight: Cohort Study Using Electronic Health Records. *Am J Public Health*, 105(9), e54-59. <https://doi.org/10.2105/ajph.2015.302773>
- Földi, M., & Földi, E. (2006). *Földi's Textbook of Lymphology: For Physicians and Lymphedema Therapists* (Vol. 3rd ed.).
- Forner-Cordero, I., Szolnoky, G., Forner-Cordero, A., & Kemény, L. (2012). Lipedema: an overview of its clinical manifestations, diagnosis and



- treatment of the disproportional fatty deposition syndrome - systematic review. *Clin Obes*, 2(3-4), 86-95. <https://doi.org/10.1111/j.1758-8111.2012.00045.x>
- Fu, S., Zhu, H., Li, S., Wang, Y., Bei, Y., & Xiao, J. (2016). Telocytes in Cardiac Protection. *Curr Stem Cell Res Ther*, 11(5), 390-394. <https://doi.org/10.2174/1574888x1105160509234231>
- Geest, A. J., Esten, S. C. A. M., Cambier, J. P., Gielen, E. G. J., Kessels, A., Neumann, H. A. M., & Kroonenburgh, M. (2003). Lymphatic disturbances in lipoedema. *Phlebologie*, 32, 138-142. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1621466>
- Geng, J., Zhang, X., Prabhu, S., Shahoei, S. H., Nelson, E. R., Swanson, K. S., Anastasio, M. A., & Smith, A. M. (2021). 3D microscopy and deep learning reveal the heterogeneity of crown-like structure microenvironments in intact adipose tissue. *Sci Adv*, 7(8). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe2480>
- Gensior, M. H. L. C. M. (2019). Der Lipödemschmerz und seine Folgen auf die Lebensqualität betroffener Patientinnen – Ergebnisse einer Patientenbefragung mittels Schmerzfragebogen. 51(04), 249–254.
- Ghods, M., Georgiou, I., Schmidt, J., & Kruppa, P. (2020). Disease progression and comorbidities in lipedema patients: A 10-year retrospective analysis. *Dermatol Ther*, 33(6), e14534. <https://doi.org/10.1111/dth.14534>
- Giannotta, M., Trani, M., & Dejana, E. (2013). VE-Cadherin and Endothelial Adherens Junctions: Active Guardians of Vascular Integrity. *Developmental Cell*, 26(5), 441-454. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.08.020>
- Godwin, A. (2011). Histochemical Uses Of Haematoxylin - A Review. *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences* 1, S. 24–34.
- Greer, K. E. (1974). Lipedema of the legs. *Cutis*, 14, 98-100.
- Harvey, N. L. (2008). The Link between Lymphatic Function and Adipose Biology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1131(1), 82-88. <https://doi.org/https://doi.org/10.1196/annals.1413.007>
- Harwood, C. A., Bull, R. H., Evans, J., & Mortimer, P. S. (1996). Lymphatic and venous function in lipoedema. *Br J Dermatol*, 134(1), 1-6.
- Hebebrand, J., Dabrock, P., Lingenfelder, M., Mand, E., Rief, W., & Voit, W. (2004). Ist Adipositas eine Krankheit? *Dtsch Ärzteblatt*, 101, A 2468-A 2474.
- Herbst, K. L. (2012). Rare adipose disorders (RADs) masquerading as obesity. *Acta Pharmacologica Sinica*, 33(2), 155-172. <https://doi.org/10.1038/aps.2011.153>
- Herbst, K. L., Kahn, L. A., Iker, E., Crescenzi, R., Ehrlich, C., Faris, T., Wright, T., McHutchison, L., Schwartz, J., Lontok, E., Schwartz, M. S., Sleigh, M., Dean, S. M., Bartholomew, J. R., Armour, P., Correa-Perez, M., Lisson, K. H., Harten, I. A., Pennings, N., . . . Zuther, J. (2020). Letter to the Editor regarding Lipoedema – myths and facts, Part 1 and Part 5. European Best Practice of Lipoedema – Summary of the European Lipoedema Forum consensus. *Phlebologie* 2020; 49: 31–49. *Phlebologie*, 50(01), e5-e6. <https://doi.org/10.1055/a-1217-0961>
- Herbst, K. L., Kahn, L. A., Iker, E., Ehrlich, C., Wright, T., McHutchison, L., Schwartz, J., Sleigh, M., Donahue, P. M. C., Lisson, K. H., Faris, T., Miller, J., Lontok, E., Schwartz, M. S., Dean, S. M., Bartholomew, J. R., Armour, P., Correa-Perez, M., Pennings, N., . . . Larson, E. (2021). Standard of

- care for lipedema in the United States. *Phlebology*, 36(10), 779-796.  
<https://doi.org/10.1177/02683555211015887>
- Hernandez, T. L., Kittelson, J. M., Law, C. K., Ketch, L. L., Stob, N. R., Lindstrom, R. C., Scherzinger, A., Stamm, E. R., & Eckel, R. H. (2011). Fat redistribution following suction lipectomy: defense of body fat and patterns of restoration. *Obesity (Silver Spring)*, 19(7), 1388-1395.  
<https://doi.org/10.1038/oby.2011.64>
- Herpertz, U. (1995). [Lipedema]. *Z Lymphol*, 19(1), 1-11. (Das Lipödem.)
- Herpertz, U. (2004). Entstehungszeitpunkt von Lipödem. *LymphForsch*, 8, 79-81.
- Herpertz, U. (2014). *Ödeme und Lymphdrainage. Diagnose und Therapie. Lehrbuch der Ödematologie*. (Vol. 5. Auflage). Schattauer.
- Hoff, F. (2022). Wie Sie Gewebeproben für die Immunfluoreszenz-Mikroskopie vorbereiten. <https://www.leica-microsystems.com/de/science-lab/life-science/wie-sie-ihre-gewebeprobe-fuer-die-immunfluoreszenzmikroskopie-vorbereiten/>
- Ioannidou, A., Fisher, R. M., & Hagberg, C. E. (2022). The multifaceted roles of the adipose tissue vasculature. *Obesity Reviews*, 23(4), e13403.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/obr.13403>
- Ishaq, M., Bandara, N., Morgan, S., Nowell, C., Mehdi, A. M., Lyu, R., McCarthy, D., Anderson, D., Creek, D. J., Achen, M. G., Shayan, R., & Karnezis, T. (2022). Key signaling networks are dysregulated in patients with the adipose tissue disorder, lipedema. *Int J Obes (Lond)*, 46(3), 502-514.  
<https://doi.org/10.1038/s41366-021-01002-1>
- Jagtmann, B. A., Kuiper, J. P., & Brakkee, A. J. (1984). [Measurements of skin elasticity in patients with lipedema of the Moncorps "rusticanus" type]. *Phlebologie*, 37(3), 315-319. (Mesures de l'élasticité de la peau chez les personnes souffrant d'un lipedème du type rusticanus Moncorps.)
- Jiroutová, A., Majdiaková, L., Cermáková, M., Köhlerová, R., & Kanta, J. (2005). Expression of cytoskeletal proteins in hepatic stellate cells isolated from normal and cirrhotic rat liver. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 48(3-4), 137-144.
- Kaiserling, E. (2005). Morphologische Alterationen. In *Földi M, Kubik S (Hrsg). Lehrbuch der Lymphologie für Mediziner, Masseur und Physiotherapeuten* (Vol. 6. Auflage, pp. 331 ± 388). Urban & Fischer.
- Kaufmann, R., Podda, M., & Landes, E. (2005). 5.2 Liposuktion. In *Dermatologische Operationen* (3., komplett neu bearbeitete und erweiterte Auflage ed.). Georg Thieme Verlag KG.  
<https://doi.org/10.1055/b-0034-67602>
- Korzilius, H. (1996). Selen unterstützt physikalische Therapie des Lymphödems. *Dtsch Arztebl International*, 93(43), A-2799.  
<https://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=3626>
- Kruppa, P., Georgiou, I., Biermann, N., Prantl, L., Klein-Weigel, P., & Ghods, M. (2020). Lipödem - Pathogenese, Diagnostik und Behandlungsoptionen. *Dtsch Arztebl International*, 117(22-23), 396-403.  
<https://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=214171>
- Kruppa, P., Gohlke, S., Łapiński, K., Garcia-Carrizo, F., Soultoukis, G. A., Infanger, M., Schulz, T. J., & Ghods, M. (2023). Lipedema stage affects adipocyte hypertrophy, subcutaneous adipose tissue inflammation and interstitial fibrosis. *Front Immunol*, 14, 1223264.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1223264>

- Langendoen, S. I., Habbema, L., Nijsten, T. E., & Neumann, H. A. (2009). Lipoedema: from clinical presentation to therapy. A review of the literature. *Br J Dermatol*, 161(5), 980-986. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09413.x>
- Lee, M.-J., Wu, Y., & Fried, S. K. (2013). Adipose tissue heterogeneity: Implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications. *Molecular Aspects of Medicine*, 34(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.10.001>
- Levick, J. R., & Michel, C. C. (2010). Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc Res*, 87(2), 198-210. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq062>
- Liehn, M., Lengersdorf, B., Steinmüller, L., & Döhler, R. (2021). *OP-Handbuch - Grundlagen, Instrumentarium, OP-Ablauf*. Springer Verlag.
- Lohrmann, C., Foeldi, E., & Langer, M. (2009). MR imaging of the lymphatic system in patients with lipedema and lipo-lymphedema. *Microvasc Res*, 77(3), 335-339. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2009.01.005>
- Lymphödem. (2024, 21.03.2024). <https://flexikon.doccheck.com/de/Lymphödem>
- Ma, W., Gil, H. J., Escobedo, N., Benito-Martín, A., Ximénez-Embún, P., Muñoz, J., Peinado, H., Rockson, S. G., & Oliver, G. (2020). Platelet factor 4 is a biomarker for lymphatic-promoted disorders. *JCI Insight*, 5(13). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.135109>
- Mancuso, P. (2016). The role of adipokines in chronic inflammation. *Immunotargets Ther*, 5, 47-56. <https://doi.org/10.2147/itt.S73223>
- Marshall, M. (1996). Differentialdiagnostische Abklärung des Lymph-, Lip- und Phlebödems mittels hochauflösender (Duplex-)Sonographie. *Ultraschall Klin Praxis*, 10, 130- 137.
- Marshall, M. (2002). Das Lipödem - ein wenig beachtetes Krankheitsbild. *Vasomed*, 6, 254 ± 257.
- Maucher, D., Schmidt, B., & Schumann, J. (2021). Loss of Endothelial Barrier Function in the Inflammatory Setting: Indication for a Cytokine-Mediated Post-Transcriptional Mechanism by Virtue of Upregulation of miRNAs miR-29a-3p, miR-29b-3p, and miR-155-5p. *Cells*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/cells10112843>
- Mayrovitz, H., McClymont, A., & Pandya, N. (2012). Skin Tissue Water Assessed via Tissue Dielectric Constant Measurements in Persons With and Without Diabetes Mellitus. *Diabetes technology & therapeutics*, 15. <https://doi.org/10.1089/dia.2012.0197>
- Mehlem, A., Hagberg, C. E., Muhl, L., Eriksson, U., & Falkevall, A. (2013). Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. *Nat Protoc*, 8(6), 1149-1154. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.055>
- Meier-Vollrath, I., Schneider, W., & Schmeller, W. (2005). Lipödem: Verbesserte Lebensqualität durch Therapiekombination. *Dtsch Arztebl International*, 102(15): A-1061 / B-892 / C-840.
- Merlen, J. F., Curri, S. B., & Sarteel, A. M. (1979). [Cellulitis, a conjunctive microvascular disease]. *Phlebologie*, 32(3), 279-282. (La "cellulite" affection microvasculoconjunctive.)
- Mulisch, M., & Welsch, U. (2010). *Romeis - Mikroskopische Technik*. Spektrum Akademischer Verlag.
- Naouri, M., Samimi, M., Atlan, M., Perrodeau, E., Vallin, C., Zakine, G., Vaillant, L., & Machet, L. (2010). High-resolution cutaneous ultrasonography to differentiate lipoedema from lymphoedema. *British Journal of*

- Dermatology*, 163(2), 296-301. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.09810.x>
- Nordmann, A. J., Nordmann, A., Briel, M., Keller, U., Yancy, W. S., Jr., Brehm, B. J., & Bucher, H. C. (2006). Effects of low-carbohydrate vs low-fat diets on weight loss and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*, 166(3), 285-293. <https://doi.org/10.1001/archinte.166.3.285>
- Olzmann, J. A., & Carvalho, P. (2019). Dynamics and functions of lipid droplets. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 20(3), 137-155. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0085-z>
- Partsch, H., Stöberl, C., Urbanek, A., & Wenzel-Hora, B. I. (1988). Clinical use of indirect lymphography in different forms of leg edema. *Lymphology*, 21(3), 152-160.
- Pellegrini, M.-S. F., & Popescu, L. M. (2011). Telocytes. *Biomolecular Concepts*, 2(6), 481-489. <https://doi.org/doi:10.1515/BMC.2011.039>
- Pereira de Godoy, L. M., Guerreiro Godoy, M. d. F., & Pereira de Godoy, J. M. (2022). Lipedema in Male Progressing to Subclinical and Clinical Systemic Lymphedema. *Journal of Medical Cases*, 13, 249-252. <https://doi.org/10.14740/jmc3806>
- Poojari, A., Dev, K., & Rabiee, A. (2022). Lipedema: Insights into Morphology, Pathophysiology, and Challenges. *Biomedicines*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123081>
- Popescu, L. M., & Faussone-Pellegrini, M.-S. (2010). TELOCYTES – a case of serendipity: the winding way from Interstitial Cells of Cajal (ICC), via Interstitial Cajal-Like Cells (ICLC) to TELOCYTES. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), 729-740. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01059.x>
- Priglinger, E., Wurzer, C., Steffenhagen, C., Maier, J., Hofer, V., Peterbauer, A., Nuernberger, S., Redl, H., Wolbank, S., & Sandhofer, M. (2017). The adipose tissue-derived stromal vascular fraction cells from lipedema patients: Are they different? *Cytotherapy*, 19(7), 849-860. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.03.073>
- Rapprich, S., Dingler, A., & Podda, M. (2010). Liposuktion ist eine wirksame Therapie beim Lipödem – Ergebnisse einer Untersuchung mit 25 Patientinnen. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 9, 33-40. [https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2010.07504\\_suppl.x](https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2010.07504_suppl.x)
- Rasmussen, J. C., Aldrich, M. B., Fife, C. E., Herbst, K. L., & Sevic-Muraca, E. M. (2022). Lymphatic function and anatomy in early stages of lipedema. *Obesity*, 30(7), 1391-1400. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/oby.23458>
- Reich-Schupke, S., Schmeller, W., Brauer, W. J., Cornely, M. E., Faerber, G., Ludwig, M., Lulay, G., Miller, A., Rapprich, S., Richter, D. F., Schacht, V., Schrader, K., Stücker, M., & Ure, C. (2017). S1-Leitlinie Lipödem. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 15(7), 758-768. [https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ddg.13036\\_g](https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ddg.13036_g)
- Rosen, E. D., & Spiegelman, B. M. (2014). What we talk about when we talk about fat. *Cell*, 156(1-2), 20-44. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.012>
- Rubin, J., Jewell, M., Richter, D., & Uebel, C. O. (2012). *Body Contouring and Liposuction* (Vol. 1. Auflage). Saunders.
- Rutkowski, J. M., Davis, K. E., & Scherer, P. E. (2009). Mechanisms of obesity and related pathologies: the macro- and microcirculation of adipose tissue.



- Febs j*, 276(20), 5738-5746. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07303.x>
- Rutkowski, J. M., Stern, J. H., & Scherer, P. E. (2015). The cell biology of fat expansion. *J Cell Biol*, 208(5), 501-512. <https://doi.org/10.1083/jcb.201409063>
- S2k Leitlinie - Diagnostik und Therapie der Lymphödeme. (2017). *AWMF Reg.-Nr. 058-001*.
- Saponaro, C., Gaggini, M., Carli, F., & Gastaldelli, A. (2015). The Subtle Balance between Lipolysis and Lipogenesis: A Critical Point in Metabolic Homeostasis. *Nutrients*, 7(11), 9453-9474. <https://doi.org/10.3390/nu7115475>
- Sarantopoulos, C. N., Banyard, D. A., Ziegler, M. E., Sun, B., Shaterian, A., & Widgerow, A. D. (2018). Elucidating the Preadipocyte and Its Role in Adipocyte Formation: a Comprehensive Review. *Stem Cell Rev Rep*, 14(1), 27-42. <https://doi.org/10.1007/s12015-017-9774-9>
- Schäfer, R., & Bieback, K. (2016). Characterization of mesenchymal stem or stromal cells: tissue sources, heterogeneity, and function. *Transfusion*, 56(4), 2s-5s. <https://doi.org/10.1111/trf.13561>
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 676-682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>
- Schmeller, W., & Meier-Vollrath, I. (2007). Das Lipödem: neue Möglichkeiten der Therapie. *Schweiz Med Forum*, 7, 150–155.
- Schmeller, W., & Baumgartner, A. (2014). Operative Aspekte bei Liposuktion des Lipödems:  
Zwölf Fragen – zwölf Antworten. *LymphForsch* 18, 6-12.
- Schmeller, W., Hueppe, M., & Meier-Vollrath, I. (2012). Tumescence liposuction in lipoedema yields good long-term results. *Br J Dermatol*, 166(1), 161-168. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10566.x>
- Schmeller, W., Hüppe, M., & Meier-Vollrath, I. (2010). Langzeitveränderungen nach Liposuktion bei Lipödem. *Lymphologie in Forschung und Praxis*, 14(2), 69-80. <http://www.lipoedem-hilfe-ev.de/form/langzeitergebnisse/Studie-Schmeller-LymphForsch-14.2.2010.pdf>
- Schmeller, W., & Meier-Vollrath, I. (2005). Lipödem. Ein Update. *LymphForsch*, 9, 10–20.
- Schmeller, W., & Meier-Vollrath, I. (2007). Lipödem - Aktuelles zu einem weitgehend unbekannten Krankheitsbild. *Aktuelle Dermatologie*, 33, 251-260. <https://doi.org/10.1055/s-2007-966651>
- Schmeller, W., & Meier-Vollrath, I. (2007). P R A X I S Das Lipödem: neue Möglichkeiten der Therapie. *Schweiz Med Forum*, 7.
- Schneider, M., Conway, E. M., & Carmeliet, P. (2005). Lymph makes you fat. *Nat Genet*, 37(10), 1023-1024. <https://doi.org/10.1038/ng1005-1023>
- Sehouli, J., Stengel, D., & Schauwecker, H. (1997). Benigne symmetrische lipomatose therapeutisches dilemma? *Langenbecks Archiv für Chirurgie*, 382(5), 271-273. <https://doi.org/10.1007/BF02395731>
- Siems, W., Grune, T., Voss, P., & Brenke, R. (2005). Anti-fibrosclerotic effects of shock wave therapy in lipoedema and cellulite. *Biofactors*, 24(1-4), 275-282. <https://doi.org/10.1002/biof.5520240132>

- Södlerlund, A., Fischer, A., & Johansson, T. (2009). Physical activity, diet and behaviour modification in the treatment of overweight and obese adults: a systematic review. *Perspect Public Health*, 129(3), 132-142. <https://doi.org/10.1177/1757913908094805>
- Spektrum. (1999). *Stressfasern*. Spektrum Akademischer Verlag. <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/polarisationsmikroskopie/52696>
- Stallworth, J. M., Hennigar, G. R., Jonsson, H. T., Jr., & Rodriguez, O. (1974). The chronically swollen painful extremity. A detailed study for possible etiological factors. *Jama*, 228(13), 1656-1659.
- Steiner, J., Schiltz, K., Heidenreich, F., & Weissenborn, K. (2002). Lipomatosis dolorosa - ein häufig übersehenes Krankheitsbild. *Nervenarzt*, 73, 183-187.
- Strohmeier, K., Hofmann, M., Jacak, J., Narzt, M. S., Wahlmueller, M., Mairhofer, M., Schaedl, B., Holnthoner, W., Barsch, M., Sandhofer, M., Wolbank, S., & Priglinger, E. (2022). Multi-Level Analysis of Adipose Tissue Reveals the Relevance of Perivascular Subpopulations and an Increased Endothelial Permeability in Early-Stage Lipedema. *Biomedicines*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051163>
- Stunkard, A., & Mc, L.-H. M. (1959). The results of treatment for obesity: a review of the literature and report of a series. *AMA Arch Intern Med*, 103(1), 79-85. <https://doi.org/10.1001/archinte.1959.00270010085011>
- Stutz, J. J., & Krah, D. (2009). Water jet-assisted liposuction for patients with lipoedema: histologic and immunohistologic analysis of the aspirates of 30 lipoedema patients. *Aesthetic Plast Surg*, 33(2), 153-162. <https://doi.org/10.1007/s00266-008-9214-y>
- Suga, H., Araki, J., Aoi, N., Kato, H., Higashino, T., & Yoshimura, K. (2009). Adipose tissue remodeling in lipedema: adipocyte death and concurrent regeneration. *J Cutan Pathol*, 36(12), 1293-1298. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0560.2009.01256.x>
- Szél, E., Kemény, L., Groma, G., & Szolnoky, G. (2014). Pathophysiological dilemmas of lipedema. *Med Hypotheses*, 83(5), 599-606. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2014.08.011>
- Szolnoky, G., Borsos, B., Bársony, K., Balogh, M., & Kemény, L. (2008). Complete decongestive physiotherapy with and without pneumatic compression for treatment of lipedema: a pilot study. *Lymphology*, 41(1), 40-44.
- Szolnoky, G., Ifeoluwa, A., Tuczai, M., Varga, E., Varga, M., Dosa-Racz, E., & Kemeny, L. (2017). Measurement of capillary fragility: A useful tool to differentiate lipedema from obesity? *Lymphology*, 50, 203-209.
- Szolnoky, G., Nagy, N., Kovács, R. K., Dósa-Rácz, E., Szabó, A., Bársony, K., Balogh, M., & Kemény, L. (2008). Complex decongestive physiotherapy decreases capillary fragility in lipedema. *Lymphology*, 41, 161-166.
- Tan, I. C., Maus, E. A., Rasmussen, J. C., Marshall, M. V., Adams, K. E., Fife, C. E., Smith, L. A., Chan, W., & Sevic-Muraca, E. M. (2011). Assessment of lymphatic contractile function after manual lymphatic drainage using near-infrared fluorescence imaging. *Arch Phys Med Rehabil*, 92(5), 756-764.e751. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2010.12.027>
- Torre, Y. S., Wadea, R., Rosas, V., & Herbst, K. L. (2018). Lipedema: friend and foe. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 33(1). <https://doi.org/10.1515/hmbci-2017-0076>
- van Dijk, C. G. M., Nieuweboer, F. E., Pei, J. Y., Xu, Y. J., Burgisser, P., van Mulligen, E., el Azzouzi, H., Duncker, D. J., Verhaar, M. C., & Cheng, C. (2015). The complex mural cell: Pericyte function in health and disease.

- International Journal of Cardiology*, 190, 75-89.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.03.258>
- van Geest, A. J., Esten, S. C. A. M., Cambier, J. P. R. A., Gielen, E. G. J., Kessels, A., Neumann, H. A. M., & van Kroonenburgh, M. J. P. G. (2003). Lymphatic disturbances in lipoedema. *Phlebologie*, 32, 138-142.
- Warren Peled, A., & Kappos, E. A. (2016). Lipedema: diagnostic and management challenges. *Int J Womens Health*, 8, 389-395.  
<https://doi.org/10.2147/IJWH.S106227>
- Weissleder, H., & Brauer, W. J. (1997). Radiologische Diagnostik beim Lipödem-Syndrom. *LymphForsch*, 1, 26-30.
- Werner, G. T., & Rodiek, S. O. (1993). Stellenwert der Kernspintomographie bei unklaren Beinödemen. *Lymphologie*, 17x, 2-5.
- Wiedner, M., Aghajanzadeh, D., & Richter, D. F. (2018). Lipödem – Grundlagen und aktuelle Thesen zum Pathomechanismus. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 50(06), 380-385.
- Williams, A. (2004). Amy's Butterfly Journey: Living My Life with Lymphedema and Obesity. *Obesity Help* 43, 4.
- Willis, B. C., duBois, R. M., & Borok, Z. (2006). Epithelial origin of myofibroblasts during fibrosis in the lung. *Proc Am Thorac Soc*, 3(4), 377-382.  
<https://doi.org/10.1513/pats.200601-004TK>
- Wold, L. E., Hines, E. A., Jr., & Allen, E. V. (1951). Lipedema of the legs; a syndrome characterized by fat legs and edema. *Ann Intern Med*, 34(5), 1243-1250. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-34-5-1243>
- Wolf, S., Deuel, J. W., Hollmén, M., Felmerer, G., Kim, B. S., Vasella, M., Grünherz, L., Giovanoli, P., Lindenblatt, N., & Gousopoulos, E. (2021). A Distinct Cytokine Profile and Stromal Vascular Fraction Metabolic Status without Significant Changes in the Lipid Composition Characterizes Lipedema. *Int J Mol Sci*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073313>
- Wounds UK. *Best Practice Guidelines The management of lipoedema*. ( 2017). Abrufbar unter [http://www.wounds-uk.com/pdf/content\\_11941.pdf](http://www.wounds-uk.com/pdf/content_11941.pdf)
- Wynn, T. A. (2008). Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol*, 214(2), 199-210. <https://doi.org/10.1002/path.2277>
- Younesi, F. S., Son, D. O., Firmino, J., & Hinz, B. (2021). Myofibroblast Markers and Microscopy Detection Methods in Cell Culture and Histology. *Methods Mol Biol*, 2299, 17-47. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1382-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1382-5_3)
- Yucel, N., & Arany, Z. (2019). Fat, obesity, and the endothelium. *Current Opinion in Physiology*, 12, 44-50.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cophys.2019.09.003>
- Zhang, H. H., Kumar, S., Barnett, A. H., & Eggo, M. C. (2000). Ceiling culture of mature human adipocytes: use in studies of adipocyte functions. *J Endocrinol*, 164(2), 119-128. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1640119>
- Zohora, F. T., Aldebs, A. I., Nosoudi, N., Singh, S. P., & Ramirez-Vick, J. E. (2019). Gene Expression Profiling of Human Adipose Tissue Stem Cells during 2D versus 3D Adipogenesis. *Cells Tissues Organs*, 208(3-4), 113-133.  
<https://doi.org/10.1159/000507187>