

eyes he could find no evidence of any qualitative differences. It was his opinion that the existence of any inhibitory substance of lenticular origin remained speculative. Subsequently, SMITH⁵ found that of 7 fractions obtained by electrophoretic separation of newt lens proteins on starch gel at least 2 fractions inhibited lens regeneration and at least 1 fraction stimulated lens regeneration. It is of interest, therefore, to note that the significant difference between newt lens extract and chick lens extract is in the antigenic nature of the β -crystallins which seem to be class-specific. This is in complete agreement with the observation of MAISEL and LANGMAN⁶ for the frog. The electrophoretic fraction of newt lens extract which contains the β -crystallin (and perhaps other substances not revealed by immunological methods) inhibits newt lens regeneration, whereas the same fraction of chick lens extract does not inhibit newt lens regeneration.

Thus, chick lens extract is not only immunologically different from that of the newt, but it is also physiologically different.

Résumé. La comparaison immunoélectrophorétique d'extrait du cristallin de salamandre avec de l'extrait du cristallin de poulet a montré que la différence essentielle réside dans le caractère antigénétique du β -cristallin. La régénération du cristallin fut inhibée par les matières extraites du cristallin de salamandre mais non pas par celles qui provenaient du cristallin de poulet.

D. E. WEDLOCK and D. J. McCALLION

Department of Zoology, University of Toronto, Toronto 5, and Department of Anatomy, McMaster University, Hamilton 16 (Canada), 13 July 1970.

Über den Einfluss des Penicillamins auf das Skeletsystem wachsender Ratten

D-Penicillamin ist ein Kupferchelator und bewirkt eine Verarmung des Organismus an Kupferionen^{1,2}. Es hemmt in vitro eine kupferhaltige Aminooxydase des Knorpel-Knochengewebes, die bei der intramolekularen Tropokollagenvernetzung benötigt wird³⁻⁵. In vivo tritt nach Penicillamin-Verabreichung bei der Maus und bei der Ratte ein Osteolathyrismus auf, der durch Kupfergabe reversibel ist^{4,6}. Im Gegensatz zum lathyritischen Kollagen nach β -Aminopropionitril ist der Aldehydgehalt des Kollagens nach Penicillamin-Behandlung grösser als derjenige des Normalkollagens⁷. Es war deshalb von Interesse zu erfahren, ob Penicillamin die Struktur und die mineralbindenden Eigenschaften der fibrillenhaltigen Grundsubstanz im Knochen- und Knorpelgewebe verändert.

Material und Methodik. 15 ca. 125 g schweren Wistaratten wurde täglich 0.2 g D-Penicillamin (DISTA, Liverpool) peroral verabreicht. 6 Ratten dienten als Kontrolle. Als Parameter für den Mineralumsatz im Skeletsystem wurde 9 Wochen nach Behandlungsbeginn 7 Tieren 10 μ Ci Sr⁸⁵ i.v. injiziert. 30 h danach wurde ein Photoszintigramm und Röntgenbild angefertigt und zusätzlich 1, 3, 4, 6, 10, 14 und 21 Tage nach der Sr⁸⁵-Injektion die Sr-Aktivität über dem Tibiakopf bestimmt.

8 Tieren wurde nach der 9. Behandlungswoche die proximale Tibiaepiphyse entnommen und nach Vorfixierung in cacodylat-gepuffertem Glutaraldehyd (6,25%)

und Nachfixierung in cacodylat-gepuffertem Osmiumtetroxyd (4%) in Epon 812 für die ultrastrukturelle Untersuchung eingebettet.

Befunde und Diskussion. Das gesamte Skeletsystem der mit Penicillamin behandelten Tiere ist gegenüber den Kontrollen strahlentransparenter, und die langen Röhrenknochen sind in ihrem Wachstum gegenüber den Kontrollen zurückgeblieben (Figur 1).

Die auffällige Verbreiterung der Epiphysenfuge wird vor allem durch eine Zunahme des Blasenknorpels verursacht. In ungewöhnlicher Weise werden in der Grundsubstanz um die hypertrophenen Blasenknorpelzellen 2000 Å dicke Kollagenfibrillen gefunden, die in einer Periodik von 640 Å gebändert sind. Sie entstehen durch seilartige Zusammenlagerung dünnerer Fibrillenelemente der Umgebung. Solche Kollagenfibrillen werden nie im hyalinen Knorpel einer normalen Epiphysenfuge be-

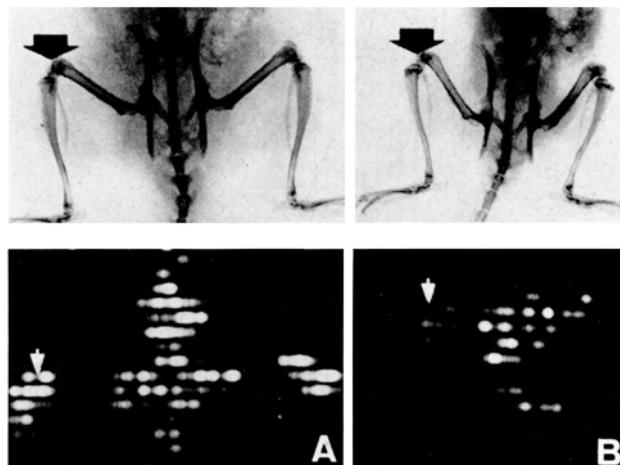


Fig. 1. Röntgenbild und Photoszintigramm nach Sr⁸⁵-Injektion. a) Kontrolltiere, b) penicillaminbehandelte Ratten: Retardierte Wachstum der Röhrenknochen, verbreiterte Tibiaepiphysenfuge, fehlende Sr⁸⁵-Akkumulation über dem Kniebereich (Pfeil).

¹ P. M. WEBER, S. O'REILLY und M. POLLYCOVE, J. nucl. Med. 10, 591 (1969).

² J. M. WALSH, Am. J. Med. 21, 487 (1956).

³ W. S. CHOU, J. E. SAVAGE und B. L. O'DELL, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 128, 948 (1968).

⁴ H. R. KEISER, R. I. HENKIN und M. KARE, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 129, 615 (1968).

⁵ R. B. RUCKER, J. C. ROGLER und H. E. PARKER, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 130, 1150 (1969).

⁶ D. JACOBUS, M. GRENHAN, B. WAGNER, C. MARGOLIS und J. JAFFE, Am. J. Path. 54, 21 (1969).

⁷ K. DESHMUK, M. E. NIMNI, J. biol. Chem. 244, 1787 (1969).

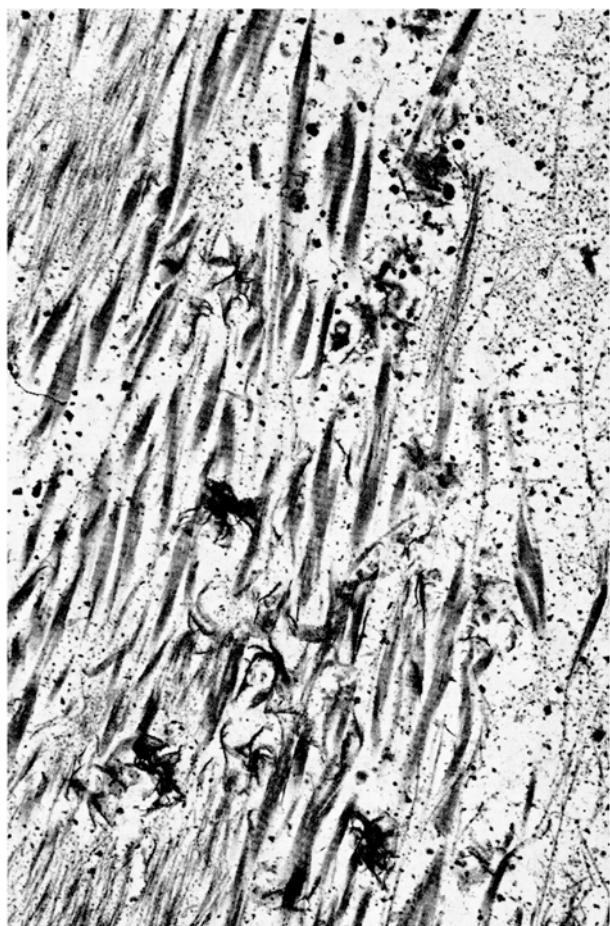


Fig. 2. Breite Kollagenfibrillen mit axialer Periodik in der fibrillären Grundsubstanz eines hypertrophen Blasenknorpels bei penicillamin induziertem Osteolathyryismus. $\times 27\,500$.

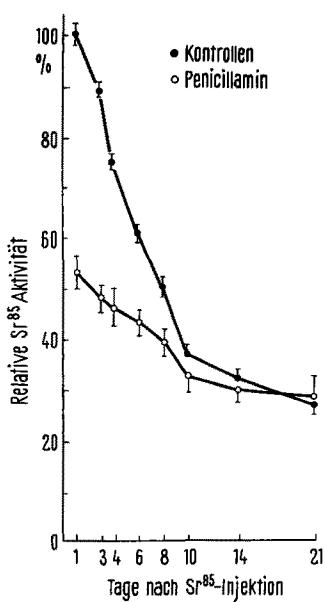


Fig. 3. Verminderte initiale Akkumulation und verzögter Abfall der relativen Sr⁸⁵-Aktivität über dem Skeletsystem der mit Penicillamin behandelten Tiere gegenüber den Kontrollen.

obachtet^{8,9} (Figur 2). Dem penicillamininduzierten Osteolathyryismus scheint somit in der Ratten-Epiphysenfuge eine überstürzte Tropokollagenvernetzung zugrunde zu liegen. Demzufolge weicht der Effekt des Penicillamins auf das Knorpelkollagen von demjenigen anderer lathyrogenen Substanzen ab^{7,10}. Während die penicillamininduzierte Vernetzungsstörung des Hautkollagens auf einer Blockierung der Aldehydgruppen des Tropokollagens beruhen soll⁷, scheint im Knorpel-Knochengewebe die Kollagenvernetzung durch einen anderen Mechanismus beeinträchtigt zu werden. Ob dieser osteolathyrogene Effekt auf einer Hemmung kupferhaltiger Aminoxydinasen beruht⁴, kann auf Grund der vorliegenden Untersuchungen nicht entschieden werden. Für eine solche Annahme würde allerdings die Tatsache sprechen, dass Kupfergaben den penicillamininduzierten Dermato-lathyryismus nicht beeinflussen⁷, während sie den Osteolathyryismus aufheben können⁴.

Der Vergleich der unter denselben technischen Bedingungen durchgeführten Photoscans 30 h nach der Sr-Injektion zeigt eine stark verminderte Strontium⁸⁵-Aktivität im Skeletsystem der behandelten Tiere, vor allem im Bereich der Epiphysenfugen (Figur 1). Ebenso fehlt die lokale Vermehrung der Radiostrontiumaktivität über den Wachstumszonen, wie sie bei den Kontrolltieren zu beobachten ist (Figur 1).

Das Röntgenbild zeigt bei den mit Penicillamin behandelten Tieren einen verminderten Mineralgehalt des Skeletsystems (Figur 1). 30 h nach der Sr⁸⁵-Applikation im Bereich der Tibiaepiphysenfuge wird eine Sr⁸⁵-Aktivität gemessen, die um 47,9% ($p < 0,0005$) geringer ist als diejenige der Kontrolltiere (Figur 3). Die effektive Halbwertszeit der Sr⁸⁵-Aktivität, die im Bereich der Tibiaepiphysenfuge gemessen wurde, ist bei den behandelten Tieren verlängert. Somit weilt das verabreichte Radiostrontium unter dem Einfluss von Penicillamin länger im Skeletsystem.

Diese Befunde legen die Vermutung nahe, Penicillamin induziere eine Störung der Fibrillogenese, wodurch einerseits die Mineralisation und andererseits die Resorption des Epiphysenknorpels gehemmt wird. Die Knorpelresorptionsstörung könnte sowohl die Verbreiterung des hypertrophen Blasenknorpels als auch die längere Verweildauer des Knorpelminerals im Bereich der Wachstumszone erklären.

Summary. Long-term treatment of rats with Penicillamine results in an osteolathyryism based on an alteration in crosslinkage of tropocollagen in epiphyseal cartilage. Uptake of Sr⁸⁵ is reduced, half-time disappearance prolonged.

U. N. RIEDE, J. J. MOLNAR,
R. FRIDRICH und H. P. ROHR

Pathologisches Institut und Röntgeninstitut der
Universität Basel, Hebelstrasse 24,
CH-4056 Basel (Schweiz), 10. Juni 1970.

⁸ D. A. CAMERON, Clin. Orthop. 26, 199 (1963).

⁹ B. ENGELDT, Acta path. microbiol. scand. 75, 201 (1969).

¹⁰ V. J. MATUKAS, B. J. PANNER und J. L. ORBISON, Lab. Invest. 16, 726 (1967).