

(Aus der Experimentell-Biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der  
Universität Berlin [Vorsteher: Professor A. Bickel].)

## **Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Avitaminose auf die Heilung von Knochenfrakturen.**

Von

**Dr. T. Watanabe** (Osaka).

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Januar 1924.)

Meine vorliegende Studie stellt die Fortsetzung von Arbeiten dar, die in dem hiesigen Laboratorium auf Veranlassung von Herrn Prof. *Bickel* über den Einfluß des Vitaminmangels auf Regenerationsprozesse ausgeführt werden. In der ersten Veröffentlichung über diesen Gegenstand vom 18. VI. 1922 hat *Ishido*<sup>1)</sup> die Beziehungen der Avitaminose zur Heilung von Hautwunden festgestellt und gefunden, daß vitaminfrei ernährte Meerschweinchen und Ratten mit künstlichen, unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln angelegte Hautwunden eine weitaus schlechtere Heilungsneigung zeigen als normal ernährte oder mit normaler Nahrung unterernährte Vergleichstiere derselben Art und unter sonst gleichen Bedingungen. Die Störung der Wundheilung bezieht sich einmal auf die verzögerte Bindegewebsbildung, durch die die Hautwunde von den darunterliegenden Gewebsschichten abgeschlossen wird, wie auch überhaupt auf die verlangsamte Vernarbung der Wunde selbst. Es kommt bei der Avitaminose, wenn die Tiere lange genug leben, und die Wunden nicht nachträglich noch infiziert werden, wozu die Wunden avitaminöser Tiere besonders neigen, schließlich doch einmal zur Vernarbung, aber sie tritt sehr viel später ein als bei Normaltieren und Tieren mit einfacher Unterernährung.

Schon im Sommer 1922, als die Ergebnisse der *Ishidoschen* Arbeit vorlagen, hatte Herr Prof. *Bickel* versuchen lassen, den Einfluß der avitaminösen Ernährung bei Meerschweinchen mit künstlichen Schenkelknochenfrakturen auf die Heilung dieser Brüche zu ermitteln. Aber die Fixationsverbände, die den Tieren angelegt werden mußten, hielten nicht, und so konnte wegen der nachfolgenden Dislokation der Knochen-

---

<sup>1)</sup> *B. Ishido*, Über Beziehungen der Avitaminose zur Wundheilung. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **240**, 242. 1922.

enden der Heilungsmodus der Fraktur nicht so genau verfolgt werden, wie es zur Entscheidung der vorliegenden Frage notwendig ist. Aus diesem Grunde schlug mir Herr Prof. *Bickel* vor, die Versuchsanordnung so zu wählen, daß bei Meerschweinchen und Ratten, unter streng aseptischen Kautelen, links die Schädelhaut in sagittaler Richtung durchschnitten, daß sie dann von der Schädelkapsel bis zur Mitte der rechten Schädelhälfte stumpf abgelöst und abgehoben, nach rechts zurückgezogen wurde, und daß nunmehr mit einer feinen Säge mit halbmondförmigem, im Querschnitt leicht keilförmigem Sägeblatt das Schädeldach in sagittaler Richtung in der Ausdehnung von etwa 1 cm bis auf die Dura, ohne letztere zu verletzen, durchsägt wurde. Alsdann wurde die Kopfhaut über die Wunde gelegt und wieder nach links gezogen; die Hautwunde wurde vernäht und mit einem Watte-Collodium-Verband verschlossen. Die Lage der Hautwunde über dem Schädeldach war auch deshalb sehr zweckmäßig für solche Versuche, weil sich zeigte, daß die Tiere den Verband in Ruhe ließen, und er auch nie stärker beschmutzt war. So konnte man eigentlich immer damit rechnen, daß keine sekundären Infektionen während des Aufenthaltes der Tiere in ihren Käfigen entstünden. Ferner blieben natürlich die Knochenwundränder ohne Fixationsverband am Schädel immer genau einander gegenüberstehen. Das ist aber gerade die wichtigste Vorbedingung, wenn man Vergleichsergebnisse bei verschiedenen Tieren gewinnen will.

Meiner Arbeit, deren Ergebnisse ich jetzt im Zusammenhang darstellen will, liegen die Beobachtungen an 30 Meerschweinchen und fast 3000 weißen Ratten zugrunde. Von diesen Tieren wurden zur mikroskopischen Untersuchung die 30 Meerschweinchen und 300 Ratten herangezogen. Bei allen diesen Tieren wurde die Stelle der Knochenwunde, und zwar in ungefähr der ganzen Längenausdehnung der Wunde in Knochenserienschnitte zerlegt. Ich erhielt so annähernd 200 000 Schnitte, auf deren Untersuchung sich meine Schlußfolgerungen stützen. Der Knochen wurde in Müller-Formol gehärtet, dann entkalkt, in Celloidin oder Paraffin eingebettet, und die Schnitte wurden teils mit Hämatoxylin-Eosin, teils nach *van Gieson*, teils nach *Weigert* auf elastische Fasern gefärbt.

### I. Versuche an Meerschweinchen.

Ich hatte 3 Gruppen von Meerschweinchen. Die erste Gruppe (Normaltiere) bestand aus 10 Tieren und erhielt als Futter trockenen Hafer, Mohrrüben, Kohlrüben und frisches Gemüse und Wasser. Die zweite Gruppe (unterernährte Tiere) bestand ebenfalls aus 10 Tieren und erhielt das gleiche Futter, wie die erste Gruppe, nur wurde den Tieren die Nahrung so zugemessen, wie den Tieren der dritten Gruppe, nämlich den vitaminfrei gefütterten Tieren. Diese dritte Gruppe (avitaminöse Tiere) bekam als Futter nur trockenen Hafer, *Osbornsches* Salzgemisch und Wasser. Das Anfangskörpergewicht war immer bei 3 Tieren der drei Gruppen gleich; d. h. ich hatte z. B. in der ersten, zweiten und dritten Gruppe je 1 Tier von 210 g, außerdem je 1 Tier von 240 g usw. Immer aber bewegten sich die Körpergewichte derselben Tiere in allen Gruppen zwischen 210—240 g. So wurde erreicht, daß jede Gruppe 1 Tier enthielt, das mit einem bestimmten, ihm an Anfangskörpergewicht gleichen Tiere jeder anderen Gruppe verglichen werden

konnte. Ferner habe ich vor dem eigentlichen Versuchsbeginn alle Tiere der drei Gruppen einige Tage unter absolut gleichartiger normaler Ernährung gehalten, wie sie die Tiere der Gruppe I dauernd bekamen. Wenn nun die Sonderernährung der Tiere bei den Gruppen II und III einsetzte, dann habe ich täglich das Gewicht aller Tiere bestimmt und habe bei den unterernährten Tieren die Nahrungszufuhr so beschränkt, daß der Gewichtsabfall bei jedem dieser Tiere sich so gestaltete, wie er bei den ihnen nach Maßgabe des Anfangsgewichtes entsprechenden Tieren der Gruppe III vorstatten ging. Wenn also z. B. das Tier mit dem Anfangsgewicht 240 g der Gruppe III an einem Tage 10 g abgenommen hatte, so bekam sofort das Tier mit 240 g Anfangsgewicht der Gruppe II so viel Futter weniger, daß es am folgenden Tage ebenfalls 10 g verloren hatte. Es mußte natürlich zu diesem Zwecke jedes Tier seinen eigenen Käfig haben.

Die Operation wurde bei allen Tieren am 10. Tage nach Beginn des eigentlichen Versuches, d. h. nach Beginn der Sonderfütterung bei den Tieren der Gruppen II und III ohne Narkose ausgeführt.

Bei der Operation fiel auf, daß avitaminöse Tiere der Gruppe III bei der Durchsägung des Knochens regelmäßig etwas schwerer stillbare Blutungen zeigten als die Tiere der Gruppe I und II, die in dieser Beziehung sich unter sich gleichartig verhielten. Das deutet darauf hin, daß bei den avitaminösen Tieren bereits nach der 10 täglichen vorausgegangenen vitaminfreien Fütterung eine leichte skorbutische Erkrankung bestand. Bei diesen Tieren waren auch, wenn sie 16 Tage oder länger mit vitaminfreiem Futter gefüttert worden waren, d. h. wenn sie lange genug lebten, regelmäßig kleine Schleimhautblutungen im Munde nachweisbar.

Ich will noch bemerken, daß bei den avitaminösen Tieren bei Todeseintritt gewöhnlich das Körpergewicht ca. 40% abgenommen hatte. Bei den unterernährten Tieren trat nach einer derartigen Körpergewichtsabnahme in keinem Falle der Tod von selbst ein. Die avitaminösen Tiere zeigten in den 2 letzten Lebenstagen einen besonders raschen Körpergewichtssturz.

Wenn nun im weiteren Verlauf des Versuches ein Tier einer Gruppe — es kam dabei immer nur die Gruppe III in Frage — spontan starb, dann wurden sofort die diesem Tiere entsprechenden Tiere der anderen Gruppe getötet. Ich setzte den Versuch so lange fort, bis alle Tiere der III. Gruppe von selbst gestorben waren. Das Tier, welches zuletzt starb, hatte die Operation 18 Tage überlebt; es war also im ganzen 28 Tage vitaminfrei ernährt worden.

An folgenden Tagen nach der Operation kamen Tiere zur Untersuchung, nämlich am 6. Tage je 1 Tier der drei Gruppen, am 8. Tage je 3 Tiere, am 13. Tage je 1 Tier, am 14. Tage je 1 Tier, am 16. Tage je 2 Tiere, am 18. Tage je 2 Tiere. Ich greife hier die Tiere vom 6. sowie 13. und 18. Tage heraus, um an ihnen die Stadien darzustellen, in denen die Regenerationsprozesse an der Knochenwunde verlaufen.

Am 6. Tag zeigte das Normaltier der Gruppe I makroskopisch eine gut verklebte Hautwunde, die Knochenwunde war an der Schnittoberfläche mit lockerem Gewebe überzogen. Das Unterhautgewebe und die Dura mater unter der Knochenwunde waren etwas hyperämisch; makroskopisch sichtbare Blutungen fehlten. Das Tier der Gruppe II vom 6. Tage zeigte ebenfalls eine gut verklebte Hautwunde, die Knochenwunde war mit lockerem Gewebe bedeckt und leichte Hyperämie des subcutanen Gewebes und der Dura mater bestand unter der Knochenwunde. Das Tier der Gruppe III am 6. Tage hatte eine nur sehr locker verklebte Hautwunde, der Spalt der Knochenwunde lag ganz offen ohne Gewebsüberzug da, das subcutane Gewebe war mit Feuchtigkeit stark durchtränkt, hämorrhagisch durchtränkt, und die Dura war unter der Knochenwunde anämisch.

Bei der mikroskopischen Untersuchung ergab sich folgendes: Bei dem Tier der Gruppe I war eine deutliche Verdickung des Periostes besonders in der Nähe des Knochenrandes an der Sägestelle mit zahlreichen Osteoblasten und stellenweise neugebildetem Knochengewebe. Der Sägespalt war mit organisiertem Bindegewebe ausgefüllt. Blutungen waren nicht nachweisbar. Das Tier der Gruppe II zeigte genau die gleichen Verhältnisse; nur die Blutung war noch nicht völlig aufgesaugt. Das Tier der Gruppe III ließ im Sägespalt eingekleitete kleine Knochensplitter erkennen. Der Spalt enthielt kein organisiertes Bindegewebe. Das Periost wies nirgends Verdickungen auf. Von irgendwelcher Callusbildung war nichts zu sehen, ebenso fehlten Osteoblasten und erst recht neugebildetes Knochengewebe.

Die Tiere vom 13. Tage boten folgende makroskopische Bilder. Bei dem Tier der Gruppe I war die Hautwunde per primam geheilt. Der Knochenspalt war auf beiden Seiten mit fest angeklebtem Periost überzogen, das verdickt war und keine Hyperämie zeigte. Der Spalt selbst war mit derbem Bindegewebe erfüllt. Das Tier der Gruppe II hatte eine per primam verwachsene Hautwunde, der Knochenspalt war beiderseits mit fest angeklebtem, nicht hyperämischem Periost überzogen. Der Spalt war angefüllt mit Bindegewebe. Das Tier der Gruppe III zeigte keine gut verklebte Hautwunde, von Heilung per primam war keine Rede. Der Knochenspalt lag offen da, er war nicht mit Periost überzogen. Das Periost in der Nähe der Knochenränder war hyperämisch. Im Gewebe zwischen dem Schädelknochen und der Dura mater waren kleine Blutextravasate. Der Spalt selbst enthielt kein Bindegewebe, sondern klappte.

Bei der mikroskopischen Untersuchung fand ich bei dem Tier der Gruppe I die Knochenränder gut abgerundet, das Periost war beiderseits stark verdickt und zeigte zapfenartige Knochenbildungen, so daß neugebildete Knochenspannen sich über die beiden Spaltöffnungen hinzogen. Auf den Knochenrändern im Spalt lagen kappenartige, halbmondförmige Massen neugebildeten Knochens. Auch vom Periost aus senkten sich beiderseits Zapfen neugebildeten Knochens in das Innere des Spaltes. Im übrigen war dieser von gut organisiertem straffem Bindegewebe ausgefüllt. Auch einige kleine, abgelöste, von der Operation offenbar herrührende Knochensplitter zeigten an ihren Rändern neugebildetes Knochengewebe. In dem neugebildeten Knochencallus ist vielfach neugebildetes knochenmarkähnliches Gewebe zu sehen. Das Tier der Gruppe II bot genau dasselbe Bild dar. Vielleicht war die Kappe aus neugebildetem Knochen über den Knochenrändern innerhalb des Spaltes nicht ganz so stark ausgebildet. Bei dem Tier der Gruppe III waren die Knochenränder eckig und zeigten sogar innerhalb des Spaltes noch die unregelmäßige zackige Beschaffenheit, wie sie eine frisch vorgenommene Durchsägung herbeiführt. Eine Kappe von neugebildetem Knochengewebe war hier nicht zu sehen. Im Spalt war zartes Bindegewebe, das einige Knochensplitter einschloß, die nekrotisch zu sein schienen. Das Periost war nirgends verdickt, beiderseits waren die Spaltränder mit lockerem Bindegewebe überzogen. Neugebildetes Knochengewebe fehlte auch hier. Blutungsherde waren hier und da vorhanden. Im Bindegewebe waren Blutcapillaren vorhanden.

Die Tiere vom 18. Tage ergaben folgenden makroskopischen Befund: Bei dem Tier der Gruppe I war die Hautwunde vernarbt. Der Befund am Knochen war so wie derjenige des Tieres vom 13. Tage. Das Tier der Gruppe II verhielt sich wie das der Gruppe I. Makroskopisch sah man schon bei den Tieren dieser beiden Gruppen, daß die Knochenränder ganz starr miteinander verbunden waren, und daß beiderseits an der Stelle der früheren Spaltöffnungen dicke feste Knochenwülste lagen. So fehlte auch hier die Verschieblichkeit der beiden Knochenstücke gegeneinander. Bei dem Tier der Gruppe III war die Hautwunde zwar geschlossen,

aber leicht wieder lösbar. Im subcutanen Gewebe fand sich eine Ansammlung von Flüssigkeit. Blutgerinnsel waren vorhanden. Das Periost war im allgemeinen ödematös. Das Periost lag in der Nähe der Knochenwunde locker dem Knochen auf. Der Knochenspalt hatte keinen Überzug und klaffte. Die Dura mater war unter der Knochenwunde etwas hyperämisch.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte das Tier der Gruppe I, daß der Knochenspalt vollständig mit neugebildetem Knochen ausgefüllt war. Es ist lehrreich, zu erfahren, daß bei einem anderen, normal ernährten Tiere, dem ich einmal ein quadratisches Knochenfenster von ca. 0,5 cm Seitenlänge angelegt hatte, auch schon am 18. Tage nach der Operation dieses Fenster vollständig mit zapfenartigen Knochenbildungen von den Rändern aus durchsetzt war. Beiderseits lagen den früheren Spaltöffnungen dicke Massen neugebildeten Knochens auf. Das Tier der Gruppe II zeigte ein mikroskopisches Bild, das etwa in der Mitte zwischen den Bildern der Tiere der Gruppe I vom 13. und 18. Tage lag. Das Tier der Gruppe III hatte einen mit jungem Bindegewebe gefüllten Knochenspalt; stellenweise waren hier kleine alte Blutextravasate, wie sie sich auch in dem Gewebe an der Duralseite des Schädelknochens unter dem Spalt befanden. Die Spaltöffnungen waren beiderseits mit lockerem Bindegewebe verklebt. Die Knochenränder waren noch nicht abgerundet, sondern noch eckig, bzw. zackig. Nekrotische Knochensplitter befanden sich hier und da.

Bei der Untersuchung der elastischen Fasern habe ich keinen Unterschied zwischen den Tieren der drei Gruppen feststellen können. Die Befunde, die ich bei den Tieren erheben konnte, die zwischen dem 6. und 13. Tage, bzw. zwischen dem 13. und 18. Tage starben, bzw. getötet wurden, reihen sich ungezwungen hinsichtlich der Ausbildung der makroskopischen und mikroskopischen anatomischen Veränderungen zwischen die hier ausführlich besprochenen Gruppen ein.

Das allgemeine Ergebnis meiner Untersuchungen an Meerschweinchen ist folgendes:

1. Normal ernährte und mit normaler Nahrung unterernährte Tiere verhalten sich in jeder Zeit nach der Operation ungefähr gleichmäßig; nur wird von dem nicht unterernährten Tiere die völlige Ausheilung der Knochenwunde einige Tage früher erreicht als von dem unterernährten Tiere. Man muß dabei berücksichtigen, daß mit der längeren Dauer des Versuches der Körpergewichtsverlust unverhältnismäßig rascher verläuft.

2. Bei den avitaminös ernährten Tieren zeigt der Knochen eine sehr geringe, man könnte beinahe sagen fast überhaupt keine Neigung, zu regenerieren. Auch die Bindegewebsneubildung ist äußerst stark verzögert. Knochensplitter werden nicht ernährt, sondern verfallen der Nekrose. Die Aufsaugung von Exsudaten und Blutextravasaten ist hochgradig verzögert.

Das alles zeigt zur Evidenz, daß nicht der Nahrungsmangel, sondern der Vitaminmangel der Nahrung und damit der Vitaminmangel des Körpers die Ursache für die schwere Regenerationsstörung ist, die ich in meinen Versuchen am Knochen nachweisen konnte.

## II. Versuche an Ratten.

Ich hatte genau wie bei den Meerschweinchen drei Gruppen. Die Gruppe I wurde calorisch ausreichend und mit allen Vitaminen ernährt, die Gruppe II erhielt

die gleiche Nahrung wie die Gruppe I, nur in verminderter Menge, die Gruppe III wurde mit derselben Nahrung wie die Gruppe I und II, nur vitaminfrei gefüttert.

Das Grundfutter wurde folgendermaßen zubereitet: Gewaschener polierter Reis und Weizeneiweiß, von der chemischen Fabrik Dr. Klopfer in Dresden-Leubnitz bezogen, wurden 3 Stunden im Autoklaven bei 140° erhitzt. Dann wurden Reis und Weizeneiweiß im Verhältnis von 10 Teilen Reis und 1 Teil Weizeneiweiß mit destilliertem Wasser zu einem dicken Brei gekocht. Nach dem Erkalten wurde dem Brei *Osbornesches* Salzgemisch zugesetzt, und zwar auf 10 Teile Brei 0,5 g Salzgemisch. Dieses Grundfutter bekamen alle Tiere der drei Gruppen. Zu dem Grundfutter für die Gruppe I und II wurde frische Butter, und zwar auf 10 Teile Brei 1 Teil Butter, für die Gruppe III an Stelle der Butter ebensoviel ausgelassenes Schweineschmalz zugefügt. Endlich wurden dem Futter für die Gruppen I und II noch auf 10 Teile Futter 0,5 Teile frischen Citronensaftes gegeben. Damit war erreicht worden, daß alle Tiere das gleiche Grundfutter in gleicher Mischung von Eiweiß, Fett, Kohlenhydrat und Salzgemisch erhielten, daß aber das Futter für die Tiere der I. und II. Gruppe außerdem noch genügende Vitamingehalte, nämlich die Faktoren A, B und C besaß.

Die Fütterung bei den Gruppen I und III wurde so vorgenommen, daß die Tiere so viel fressen konnten, als sie wollten. Nie waren die Futternäpfe leer. Den Tieren der II. Gruppe aber wurde das Futter nur in den Mengen gegeben, daß sie die von mir gewünschte Gewichtsabnahme zeigten.

Zunächst wurden alle Tiere aller Gruppen zusammen 10 Tage mit dem Futter der Gruppe I ohne irgendwelche Nahrungsbeschränkung gefüttert. Als dann wurden die Tiere in die drei Gruppen geteilt, und nun erhielten sie, wie oben angegeben, das Gruppenfutter. Bei dieser Fütterung blieben sie zunächst entweder 10 Tage oder 30 Tage. Am 10. oder 30. Tage wurde dann die Schädeloperation genau wie bei den Meerschweinchen gemacht. Die Gruppenfütterung ging dann nach der Operation weiter. In verschiedenen Zeiträumen nach der Operation wurde dann immer je 1 Tier der drei Gruppen, und zwar alle diese Tiere gleichzeitig, durch Leuchtgasvergiftung getötet.

Wie bei den Meerschweinchen entsprach immer dem Anfangsgewicht nach ein Tier der ersten Gruppe einem bestimmten Tiere der zweiten und auch der dritten Gruppe.

In einem Käfig saßen immer 5 Tiere zusammen. Die Gewichtsabnahme bei den unterernährten Tieren konnte darum nicht so genau der Gewichtsabnahme bei den avitaminösen Tieren parallel gestellt werden wie bei den Meerschweinchen, aber es wurde doch erreicht durch Gewichtsbestimmungen in 4-tägigen Zwischenräumen, daß sie ungefähr gleich lief. Die Kurven der Gewichtsabnahme der unterernährten Tiere und der vitaminfrei ernährten Tiere verlaufen auch deshalb nur im großen und ganzen parallel, weil bei den vitaminfrei ernährten Tieren immer gelegentlich interkurrente kleine Gewichtszunahmen auftreten können. Die Anfangsgewichtszunahme, die man bei vitaminfrei ernährten Tieren häufiger in den ersten 2 Wochen nach Beginn der avitaminösen Fütterung sieht, lag bei meinem Versuche im wesentlichen vor der Zeit der Operation und kann also unberücksichtigt bleiben.

Ich habe nun die Tiere nach der Operation am 4., 8., 9., 12., 15., 17., 28., 30., 36., 43., 50., 60. Tage getötet.

Nun passiert es bei solchen Rattenversuchen gar nicht selten, daß einmal ein Tier einer Gruppe von den anderen Tieren dieser Gruppe aufgefressen wird, sei es, daß das betreffende Tier körperlich schwach wird oder spontan stirbt. Wenn ein solches Ereignis eintrat, mußte die ganze Gruppe aus dem Versuch

ausgeschaltet werden, da ja dann die Tiere eine andere Nahrung, wenn auch nur an einem Tage, erhalten hatten.

Die mikroskopische Untersuchung wurde genau so wie bei den Meerschweinchen vorgenommen.

Ich habe mich nun bei weitaus den meisten Tieren nur auf die makroskopische Untersuchung des Schädels beschränkt und allein bei ganz einwandfrei durchgeführten Versuchen die Serienschnitte des Schädelknochens im Bereiche des Operationsfeldes angefertigt, von denen zwar nicht alle, aber doch die meisten bei jedem Tiere gefärbt wurden. Bei den anderen Tieren begnügte ich mich mit der gelegentlichen Anfertigung einzelner Probeschnitte.

Die 300 Ratten, bei denen die Schnittreihen angefertigt wurden, bestanden aus 12 Gruppen, die an den oben genannten Tagen getötet worden waren.

Es war nie ein Unterschied in den Ergebnissen, je nachdem ich die Gruppenfütterung vor der Operation 10 Tage oder 30 Tage vornahm. Denn im ersteren Falle waren die unterernährten Tiere viel weniger geschädigt und die vitaminfrei ernährten Tiere viel weniger vitaminarm in ihrem Körper als nach 30tägiger Vorfütterung. Der operative Eingriff betraf also im letzteren Falle einen schwerer geschädigten Körper bei den Gruppen II und III als im ersteren Falle.

Die Tiere mit 10tägiger Gruppenvorfütterung aber habe ich zu denselben Zeiten getötet wie die Tiere mit der 30tägigen Vorfütterung.

Es ist mir nun nicht möglich, wenn nicht meine Arbeit einen unangemessenen Umfang bekommen soll, alle Befunde bei diesen 12 Gruppen bei den beiden Versuchsanordnungen einzeln zu schildern. Ich fasse darum das allgemeine Ergebnis meiner Beobachtungen hier zusammen.

*Bei den Tieren mit 10 tägiger Gruppenvorfütterung war bei der Knochenheilung in der Zeit vom 4. bis 60. Tage nach der Operation überhaupt kein Unterschied zwischen den Tieren der Gruppe I und II zu sehen. Die unterernährten Tiere verhielten sich genau wie die Normaltiere. Die vitaminfrei ernährten Tiere der Gruppe III zeigten aber ebenfalls keinen Unterschied von den Tieren der anderen Gruppen.*

Dieses Ergebnis kann nur auf folgende Weise erklärt werden. Nach 10tägiger vitaminfreier Fütterung ist bei den Ratten noch kein Zustand einer stärkeren Hypovitaminose erreicht. Das lehrt alle Erfahrung über die experimentelle Avitaminose bei Ratten, daß bei diesen Tieren im Gegensatz zu den Meerschweinchen und dem Geflügel sich die Avitaminose sehr langsam entwickelt. Sie ist bei den Ratten eine hervorragend chronische, bei den Meerschweinchen und dem Geflügel aber eine subakute, ja akute Krankheit. So begreift man, daß nach 10tägiger vitaminfreier Fütterung der Körper auch noch seine Regenerationskraft behalten hat; in dieser Zeit kommen ja auch noch bei den Ratten leichte Körpergewichtszunahmen zustande. Aber auch in den ersten 20—30 Tagen ist die Krankheit noch nicht auf so großer Höhe angelangt, daß die Regeneration versagt. Die Knochenregeneration ist nach Maßgabe meiner Versuche an den Normaltieren der Gruppe I etwa nach 2 Wochen vollendet. So fällt also diese Regenerationszeit auch bei den vitaminfrei ernährten Tieren der Gruppe III noch in eine Periode, in der die Avitaminose erst anfängt, langsam gröbere Störungen zu machen. Wenn dann im Verlaufe von etwa 14 Tagen der Knochen regeneriert ist, dann bleibt er es auch, solange ein solches Tier noch leben mag. Darum sehen wir bei diesen Ratten der Gruppe III auch selbst am 60. Tage nach der Operation keinen Unterschied im Vergleich zu den unterernährten Tieren und den Normaltieren.

*Es ist von höchster Wichtigkeit, zu sehen, wie die Gewebe verschiedener Tierarten in ungleichmäßiger Weise von dem gleichen krankmachenden Faktor, der Vitaminfreiheit der Nahrung, betroffen worden sind, wie die gleiche Funktion, nämlich die Regeneration in ganz ungleichem Grade gestört wird. So sind ja auch die Blut-*

*capillaren des Geflügels z. B. viel unempfindlicher gegen den Mangel an Vitaminen als die Capillaren des Meerschweinchens.*

*Bei meinen Ratten, die 30 Tage unter der Gruppenvorfütterung gehalten waren, ehe die Operation gemacht wurde, fand ich folgendes:*

Bei den Normaltieren der Gruppe I war etwa am 12. bis 15. Tage nach der Operation der Knochen geheilt, nicht ganz so rasch ging die Heilung bei den unterernährten Tieren der Gruppe II vonstatten. Die vitaminfrei ernährten Tiere der Gruppe III verhielten sich folgendermaßen: Im Gegensatz zu den avitaminösen Meerschweinchen vollzog sich die Resorption der Blutextravasate nach der Operation in normaler Weise. Im Vergleich zu den Normaltieren der Gruppe I fand bei den avitaminösen Tieren die Bindegewebsbildung im Knochenspalt in derselben Weise statt; vielleicht war das Bindegewebe etwas reicher an neugebildeten Blutcapillaren. Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bestanden in folgendem: Bei den avitaminösen Tieren war der alte Knochen besonders bei den in späterer Zeit nach der Operation getöteten Tieren etwas atrophisch, dabei wurde eine schlechte Färbbarkeit der Knochenzellen vielfach notiert. Der neugebildete Knochen sah vielleicht etwas homogener aus als der neugebildete Knochen der Normaltiere und der unterernährten Tiere, die zu gleicher Zeit getötet waren. Der neugebildete Knochen der avitaminösen Tiere beherbergte auch wohl eine geringere Zahl von Knochenzellen. Auch die zapfenartigen Knochenbildungen waren bei den avitaminösen Tieren nicht so ausgeprägt wie bei den Normaltieren und unterernährten Tieren. Bei den Tieren der Gruppen I und II waren ferner immer um den 30. Tag nach der Operation die beiden Knochenenden so fest vereinigt, daß keine Verschieblichkeit mehr an der Stelle der Operationswunde vorhanden war; bei den avitaminösen Tieren aber federte der Knochen auch noch am 60. Tage nach der Operation bei dieser Prüfung der Verschieblichkeit an der Stelle des Sägeschnittes. Eine absolut starre Verlötung habe ich hier nie beobachtet. Diese Feststellung ist deshalb wichtig, weil die Starrheit des Knochengewebes doch zweifellos mit der Verkalkung zusammenhängt, und weil aus meiner Beobachtung hervorgehen dürfte, daß die normale Verkalkung des neugebildeten Knochens bei der Avitaminose Not leidet. Diese Schlußfolgerung steht in Einklang mit den Beobachtungen von Miyadera<sup>1)</sup> aus unserem Laboratorium, der im Stoffwechselversuche fand, daß der avitaminöse Körper den Kalk schlechter zurückhält als der Normalkörper; sie steht auch in Einklang mit pädiatrischen Untersuchungen über die schlechte Kalkspeicherung bei Kindern mit Hypovitaminose und der auf dieser Basis entstandenen Rachitis.

*Alles in allem lehren meine Untersuchungen an den Ratten, daß selbst nach 30 tägiger vitaminfreier Fütterung eine hervorgerufene Knochenfraktur auch bei fortgesetzter vitaminfreier Nahrung noch ausheilt durch neugebildeten Knochen, daß aber die Knochenregeneration nicht ganz in normaler Weise verläuft, sondern daß Anzeichen vorhanden sind, die auf eine gewisse Verzögerung bei der Regeneration und auf eine unvollständige Verkalkung des Knochens hinweisen.*

Gerade im Hinblick auf die im Vergleich zu den Meerschweinchen viel geringeren Störungen, die die Knochenregeneration bei den Ratten erkennen läßt, war es notwendig, diese Versuche an einem möglichst großen Tiermaterial durchzuführen. Denn die Gesetzmäßigkeit der verhältnismäßig kleinen Störungen, die ich bei den Ratten beobachtete, kann nur dann erkannt werden, wenn man über ein sehr großes Beobachtungsmaterial verfügt.

Ich möchte hier endlich noch anfügen, daß die Regeneration der elastischen Fasern bei allen Tieren in ganz gleichmäßiger Weise verlief.

<sup>1)</sup> Miyadera, Über die Beziehungen der Vitaminfunktion zum Kalkstoffwechsel. Biochem. Zeitschr. 1922.



*Ergebnisse.*

1. Bei Meerschweinchen bedingt das Bestehen einer kurzfristigen Avitaminose bereits schwere Störungen in der Heilung von Knochenfrakturen, die sich in einem fast völligen Versagen der Knochenneubildung äußern.

2. Die Aufsaugung von traumatischen Blutaustritten ist bei avitaminösen Meerschweinchen stark verzögert.

3. Unterernährung schädigt die Knochenneubildung bei Meerschweinchen kaum.

4. Bei Ratten bedingt die Avitaminose nur dann Störungen in der Heilung von Knochenfrakturen, wenn die vitaminfreie Ernährung bereits mehrere Wochen der Knochenfraktur vorausgegangen ist. Aber auch dann ist die Regeneration des Knochens noch unvergleichlich viel besser als bei den Meerschweinchen unter den genannten Bedingungen. Die Verkalkung des neugebildeten Knochens scheint Not zu leiden.

5. Eine Verzögerung der Aufsaugung von traumatischen Blutungen ist bei Ratten nach 30tägiger vitaminfreier Fütterung nicht nachweisbar.

6. Unterernährung schädigt bei Ratten die Knochenneubildung etwas weniger als vitaminfreie Ernährung.

7. Aus der Gegenüberstellung der Befunde bei den Meerschweinchen und den Ratten ergibt sich, daß der Vitaminmangel die gleiche Funktion bei verschiedenen Tierarten in ganz verschiedener Stärke schädigen kann.

8. Vielleicht drückt sich in dem verschiedenen Verhalten der Meerschweinchen und der Ratten hinsichtlich der Knochenregeneration auch der verschiedene klinische Charakter derselben Krankheit bei den beiden Tierarten aus, indem die Avitaminose bei den Meerschweinchen unter dem Bilde einer akuten oder subakuten Krankheit, bei den Ratten aber in Form einer durchaus chronisch verlaufenden Krankheit in Erscheinung tritt.

Es seien nun an einer Reihe von Abbildungen meine Darlegungen und Schlußfolgerungen erläutert.

**Meerschweinchen.**

*Präparate am 8. Tage nach der Operation.*

Abb. 1. Gruppe I. Leitz Obj. II. Okul. 3. Hämatoxylin-Eosin. Der Knochenspalat ist gefüllt mit organisiertem Bindegewebe. Der Blutungs-herd ist schon etwas resorbiert. Beginnende Knochenregeneration beiderseits am Periost. Einige nicht nekrotische Knochensplitter sind sichtbar, an einem großen sieht man neugebildeten Knochen.

Abb. 2. Gruppe II. Leitz Obj. II. Okul. 3. Hämatoxylin-Eosin. Die Knochenbildung ist etwas geringer, sonst ist der Befund derselbe wie bei der Abb. 1.



Abb. 1.



Abb. 2.



Abb. 3.

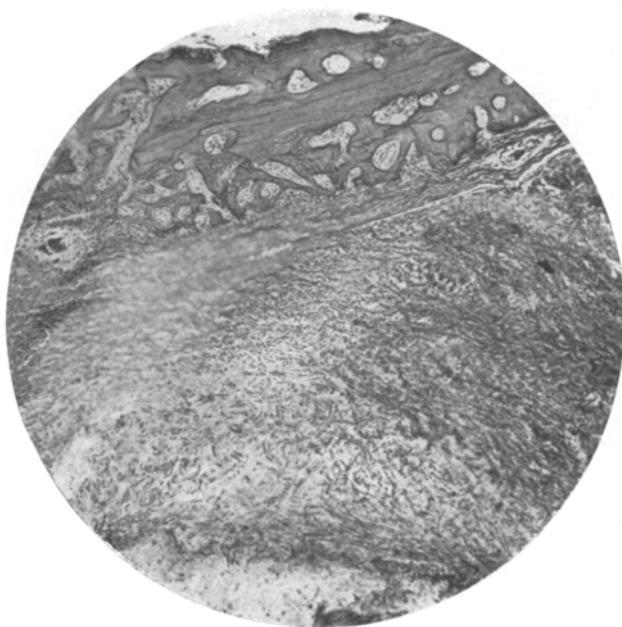


Abb. 4.

Abb. 3. Gruppe III. Leitz Obj. II. Okul. 3. Van Gieson. Der Knochenspalt ist mit jungem Bindegewebe erfüllt. Ein großer Blutungsherd liegt in der Mitte. Im epiduralen subperiostalen Gewebe findet sich viel Blut. Von neugebildeten Knochen ist nichts zu sehen. Einige kleine nekrotische Knochensplitter sind vorhanden.

*Präparate am 18. Tage nach der Operation.*

Abb. 4. Gruppe I. Leitz Obj. II. Okul. 3. Hämatoxylin-Eosin. Beiderseits liegen dem alten Knochen große zapfenartige Bildungen jungen Knochens auf. Der Knochenspalt ist auch mit solchen Zapfen und organisiertem Bindegewebe erfüllt.

Abb. 5. Gruppe II. Leitz Obj. II. Okul. 3. Hämatoxylin-Eosin. Beiderseits liegen dem alten Knochen neugebildete zapfenartige Knochenmassen auf. Sie sind an der Duralseite stärker als an der anderen Fläche. Der Knochenspalt ist mit Knochenzapfen erfüllt.

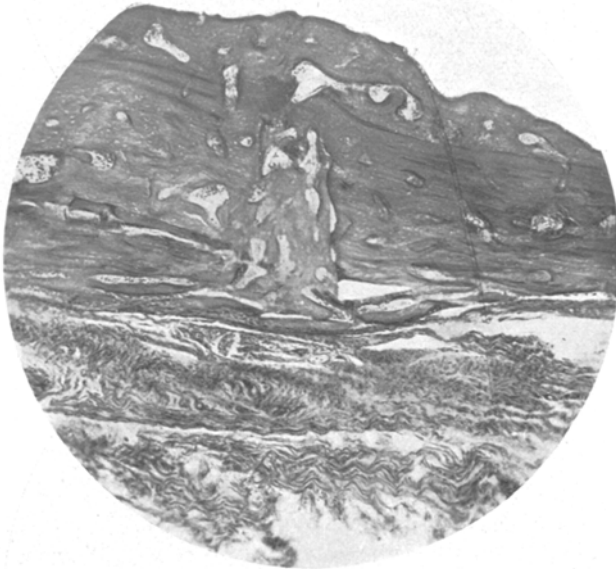


Abb. 5.

Abb. 6. Gruppe III. Leitz Obj. II. Okul. 5. Van Gieson. Dieses Präparat stellt einen Querschnitt des keilförmigen Sägeschnittes an einem Ende des Schnittes dar, nicht wie bei allen anderen Präparaten einen Querschnitt in der Mitte des Sägeschnittes, wo der Knochen völlig durchtrennt ist. Darum sieht man auf der Abb. 6 am Boden des Sägeschnittes noch alten Knochen. Die Ränder dieses alten Knochens tragen eine Zellschicht mit Osteoblasten, aber der Sägespalt ist noch nicht mit Knochenzapfen durchsetzt, sondern nur mit Fibroblasten, in deren Mitte ein Blutungsherd liegt.

**Ratten.**

*Alle Präparate stammen von Tieren mit 30 tägiger Gruppenvorfütterung.*

*Präparate am 50. Tage nach der Operation.*

Abb. 7. Gruppe I. Leitz Obj. II. Okul. 3. Hämatoxylin-Eosin. Knochenspalt völlig ausgefüllt mit neugebildetem Knochen.

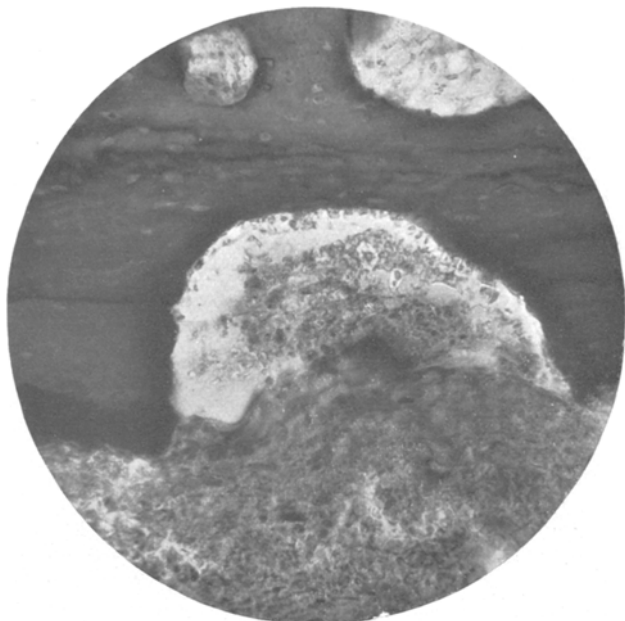


Abb. 6.

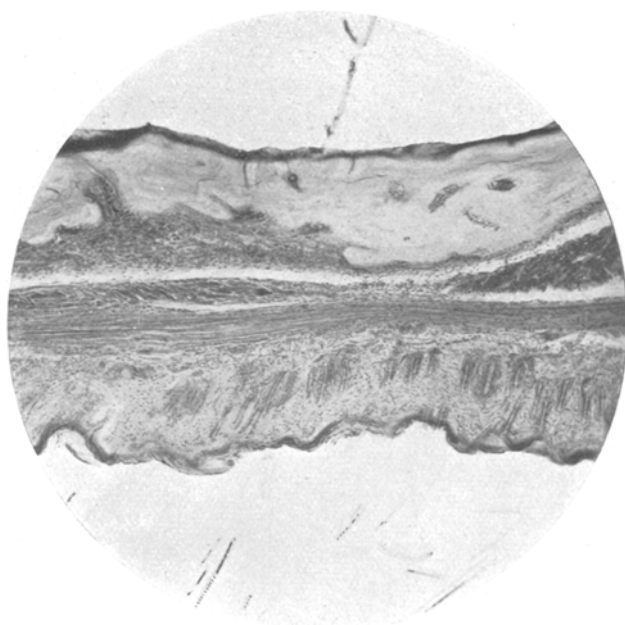


Abb. 7.

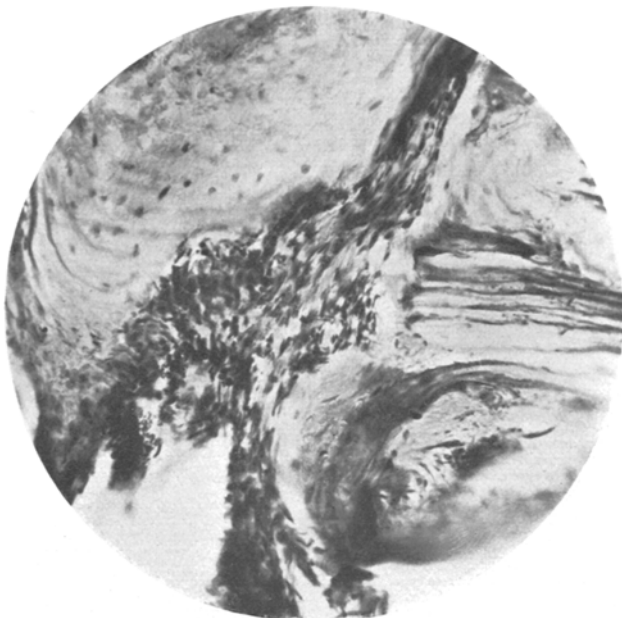


Abb. 8.

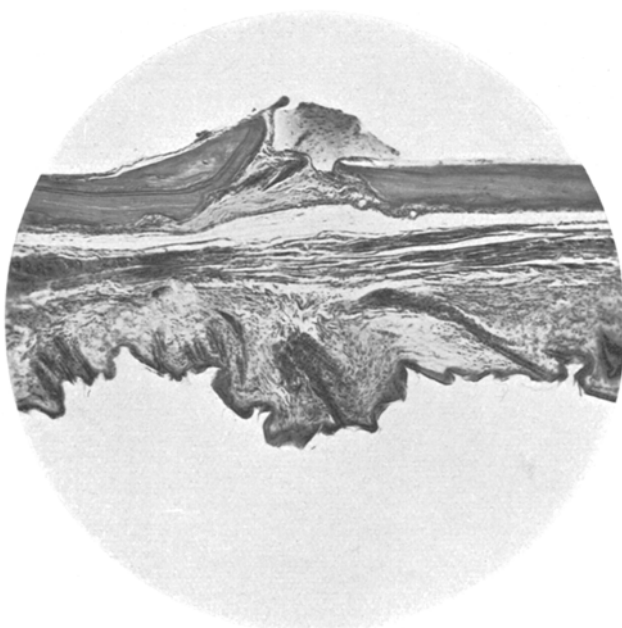


Abb. 9.

Abb. 8. Gruppe II. Leitz Obj. II. Okul. 5. Hämatoxylin-Eosin. Knochenspalt erfüllt mit Bindegewebe und dazwischen Knochenzapfen. Der neugebildete Knochen ist sehr zellreich. Der Knochenstumpf trägt eine dicke Kappe aus neugebildeten zellreichen Knochen.

Abb. 9. Gruppe III. Leitz Obj. II. Okul. 3. Hämatoxylin-Eosin. Knochenspalt gefüllt mit organisiertem Bindegewebe. Alter Knochen sieht atrophisch aus, die Zellen sind schlecht färbbar und spärlich vorhanden. Knochenstumpf abgerundet. An der Duralseite ist neugebildeter Knochen sichtbar, nicht zapfenartig, sondern mehr homogener Beschaffenheit; ihm liegt nur ein schmales Zellband auf.

*Präparat eines avitaminösen Tieres am 60. Tage nach der Operation.*

Abb. 10. Gruppe III. Leitz Obj. II. Okul. 5. Hämatoxylin-Eosin. Knochenspalt gefüllt mit lockerem Bindegewebe. Oberfläche der Knochenwunde noch nicht



Abb. 10.

völlig überzogen mit periostalem Gewebe. Auf beiden Seiten des alten Knochens nur sehr geringe Knochenneubildungen mit wenig Zellen. Alter Knochen von atrophischem Aussehen, fast ohne Zellen. Knochenstümpfe schlecht abgerundet.

Während ich mit meiner vorliegenden Arbeit beschäftigt war, erschien eine Veröffentlichung von Shinya<sup>1)</sup>, in der dieser Autor folgende Versuche mitteilt. Zunächst studierte er an skorbutischen Meerschweinchen die Knochenveränderungen und fand vor allem die Rippen, die großen Röhrenknochen, etwas weniger die Metatarsalknochen und die Phalangen verändert. Die Veränderung bestand in einer starken Atrophie des Knochens in einer Bindegewebswucherung am Periost der Metaphysen, in hellem Fettmark der Metaphysen, leichtem Abbrechen

<sup>1)</sup> Shinya, Über Knochentransplantation bei experim. Skorbut. Zeitschr. f. med. Gesellsch. Osaka, 22. VI. 1922. (Japanische Sprache.)

des Knochens an der Metaphyse im Bereich der Wucherungszone, in subperiostalen Fibrinausscheidungen und in den bekannten Blutungen unter dem Periost und im Knochenmark. Diese Knochenveränderungen sind nicht immer abhängig von der Zeit der vitaminfreien Fütterung, sondern es spielt auch ein individueller Faktor mit. Ferner transplantierte *Shinya* skorbutische Meerschweinchenknochen (Phalangen und Metatarsalknochen) auf gesunde Tiere derart, daß er einen oder zwei durch ein Gelenk verbundene Metatarsal-Phalangealknochen exstirpierte und dann die entsprechenden Knochen eines skorbutischen Tieres in die Lücken einsetzte. Als Schiene dienten die benachbarten Knochen. Bei einem Drittel aller Fälle gelang die Transplantation. Transplantierte Rippen heilen unter solchen Verhältnissen viel schlechter ein, da sie skorbutischer sind. Umgekehrt hat er dann gesunde Knochen bei kranken Meerschweinchen transplantiert. Längere Beobachtungszeit war nicht möglich, weil die Tiere am Skorbut zu frühzeitig starben. Eine Einheilung des transplantierten Knochens kam jedenfalls nicht zustande. Auch wenn er Knochen von einem gesunden Meerschweinchen auf ein anderes gesundes Meerschweinchen übertrug, oder wenn er beim gesunden Tiere eine Autotransplantation von einer Extremität auf die andere machte und erst nach der Operation die Tiere vitaminfrei fütterte, dann trat zunächst in einer bestimmten Zeit, solange die Normalfütterung währte, eine Einheilung auf, aber dann stellten sich mit Beginn der vitaminfreien Ernährung sofort die skorbutischen Veränderungen ein, und die Knocheneinheilung blieb auf dem Stadium stehen, das sie bei Beginn der vitaminfreien Fütterung jeweils erreicht hatte. Gerade an den Orten der Knochenregeneration bei diesen Einheilungsprozessen war die skorbutische Störung besonders ausgeprägt.

Im Hinblick auf meine Versuche sind diese Beobachtungen gewiß interessant. Sie bewegen sich in derselben Richtung, und die Ergebnisse unserer vielen mit verschiedener Anordnung vorgenommenen Experimente stimmen überein.

---