

Knochenbildung und Wachstumsstörungen bei der Hypervitaminose D.

Ein Vergleich mit Rachitis und normalen Ratten.

Von

J. A. Collazo, P. Rubino und B. Varela (Montevideo)*.

Mit 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Januar 1929.)

Weiße Ratten und Kaninchen, die mit einer übermäßig großen Menge bestrahlten Ergosterins (5 mg täglich) gefüttert werden, zeigen schon nach 15—20 Tagen eine auffällige Neigung, Kalksalze in verschiedenen Geweben niederzuschlagen. *Kreitmair* und *Moll*¹ deuteten schon auf die Kalkablagerung der Aorta hin. Die Kalkablagerung in die Aortenwände ist eine sehr frühzeitige und ständige Erscheinung nach großen Ergosteringaben. Das erste Stadium dieser Vorgänge ist nach unseren eigenen Beobachtungen² denjenigen der menschlichen Arteriosklerose (*Jores*³) sehr ähnlich.

In dieser Mitteilung wollen wir über die Störungen der Knochenbildung und ihrer Folgen auf das Wachstum der Tiere berichten. Unsere Beobachtungen beziehen sich auf weiße, 3—4 Wochen alte Ratten, die mit gewöhnlichem Futter ernährt wurden, dem wir täglich 5 mg bestrahlten Ergosterins zugesetzt hatten. Die Versuchstiere wurden in einem dunklen Käfig gehalten. Der Tod erfolgt gewöhnlich nach 2—3 Monaten.

Störungen der Knochenbildung.

Die folgenden Angaben beziehen sich auf das obere Tibiaende. Die Erscheinungen, die wir an anderen langen Röhrenknochen wahrgenommen haben, stimmen vollkommen mit denen am oberen Ende der Tibia beobachteten überein. Abb. 1 zeigt in 4facher Vergrößerung einen Längsschnitt durch das Kniegelenk einer weißen hypervitaminisierten Ratte, im Vergleich zu dem entsprechenden Gelenk einer normalen weißen Ratte, und dem einer rachitischen Ratte. Die entsprechenden Tiere waren alle drei vom gleichen Alter (12 Wochen). Die Verkleinerung der Knochenepiphysen bei dem Tiere, das an Hypervitaminose litt, fällt sofort auf und steht im Gegensatz zu der Vergrößerung, die an dem rachitischen Kniegelenk zu sehen ist.

* Mitteilung an die Biologische Gesellschaft von Montevideo, 14. XI. 1928.

Wachstumsknorpel.

Die Breite des Wachstumsknorpels ist ungefähr um die Hälfte des Knorpels eines normalen Tieres verringert. Auch die Zellmenge der Knorpelzellsäulen ist um die Hälfte vermindert. Die Knorpelzellen, welche sich normalerweise in parallellaufenden Säulen aneinanderreihen (Abb. 2), zeigen hier die regelmäßige Anordnung nicht mehr. Es fehlt außerdem jede Differenzierung dieser Zellen nach der Diaphysenseite hin (Abb. 3). Die hauptsächlichsten Veränderungen sind an der Grenze zwischen Knorpel und Diaphysen zu finden. Der Über-

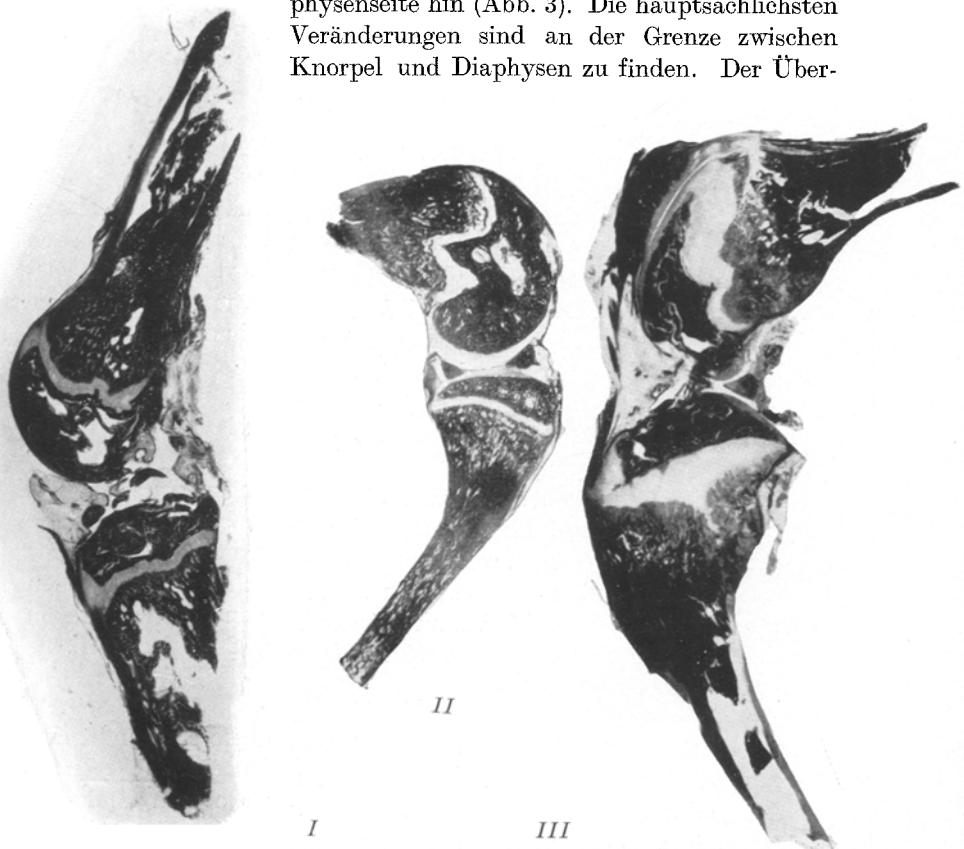


Abb. 1. Kniegelenk weißer Ratten, 12 Wochen alt. (Längsschnitt 4,5 mal vergrößert.)
I = Normales Kniegelenk; *II* = Hypervitaminöses Kniegelenk; *III* = Rachitisches Kniegelenk.

gang zwischen Knorpel und Knochen ist hier ein plötzlicher; die normale intermediäre Osteoidschicht fehlt. In einigen Fällen beobachtet man, daß breitere Diaphysenmarkräume bis zum Knorpelrand reichen (Abb. 4). An anderen Stellen sieht man die Knorpelzellen von einem dünnen Kalkniederschlag umgeben, der sich allmählich verbreitert, während die Zellen selbst gleichzeitig verkleinert sind. Diese Stellen

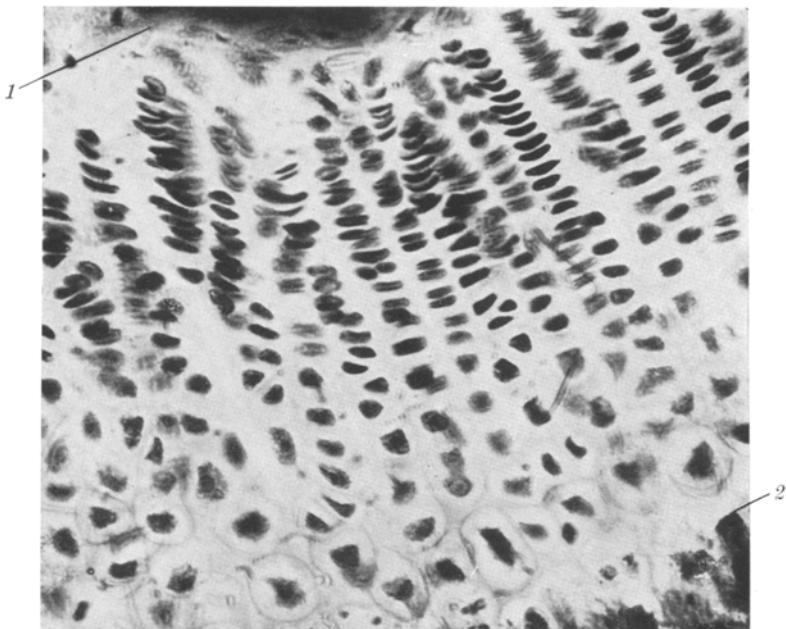


Abb. 2. Normaler Wachstumsknorpel des oberen Tibiaendes. Regelmäßige Knorpelzellensäulen.
1 = Epiphyse; 2 = Diaphyse.

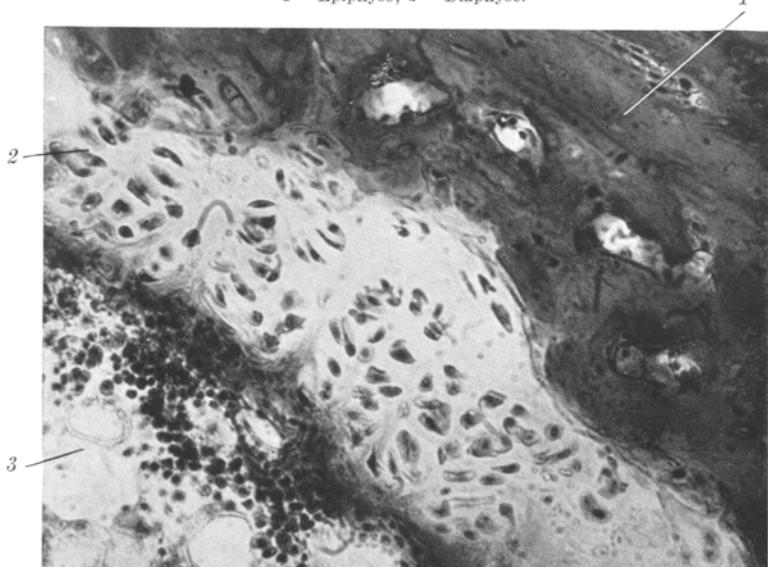


Abb. 3. Wachstumsknorpel des oberen Tibiaendes bei der Hypervitaminose D. Die Knorpelzellensäulen sind nicht mehr parallel eingereiht; es fehlt die Differenzierung der Knorpelzellen.
Der diaphysäre Rand des Knorpels begrenzt direkt einen breiten Markraum.
1 = Knochenneubildung bei der Epiphyse; 2 = Wachstumsknorpel; 3 = Diaphysen-Markraum.



Abb. 4. Grenzlinie zwischen Wachstumsknorpel und Diaphyse bei der Hypervitaminose. Es fehlt hier die normale Osteoidenschicht. Direkte Umwandlung von Knorpel in Knochengewebe. 1 = Wachstumsknorpel; 2 = Knochen; 3 = Knorpelzellen direkt in Knochenzellen umgewandelt.

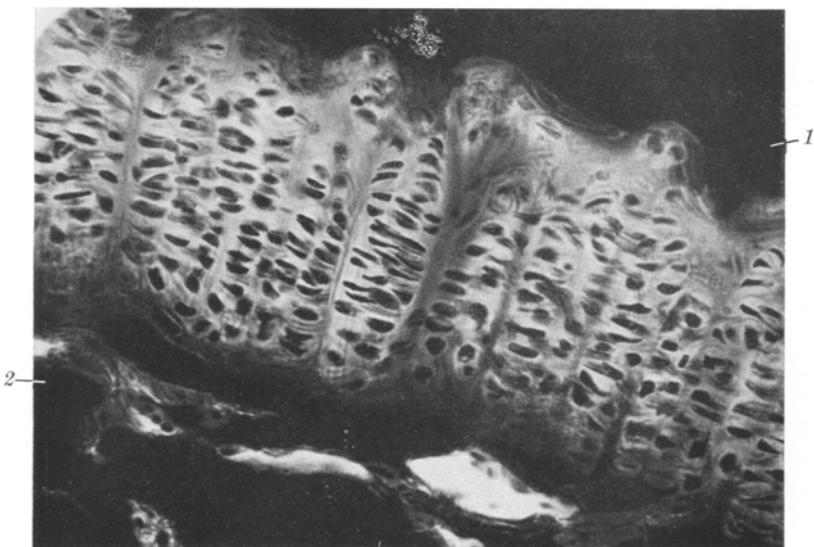


Abb. 5. Wachstumsknorpel der Tibia bei der Hypervitaminose. Kalkbrücken zwischen Ephyphysen und Diaphysen, den Knorpel durchdringend. 1 = Ephyphysen; 2 = Diaphyse.

lassen einen Schluß zu, wie die unmittelbare Umwandlung des Knorpels in Knochenzellen vor sich geht (Abb. 4). Nach dem histologischen Befunde handelte es sich um eine direkte Metaplasie des Knorpels im Knochen, wie sie in gewissen anormalen Prozessen von Neubildungen im Knochengewebe zu beobachten ist (*Leriche* und *Policard*⁴).

Im Knorpel selbst treten an verschiedenen Stellen Kalksalzniederschläge auf, die parallel zu den Knorpelzellsäulen verlaufen und als Brücken zwischen der Diaphyse und der Epiphyse erscheinen (Abb. 5).

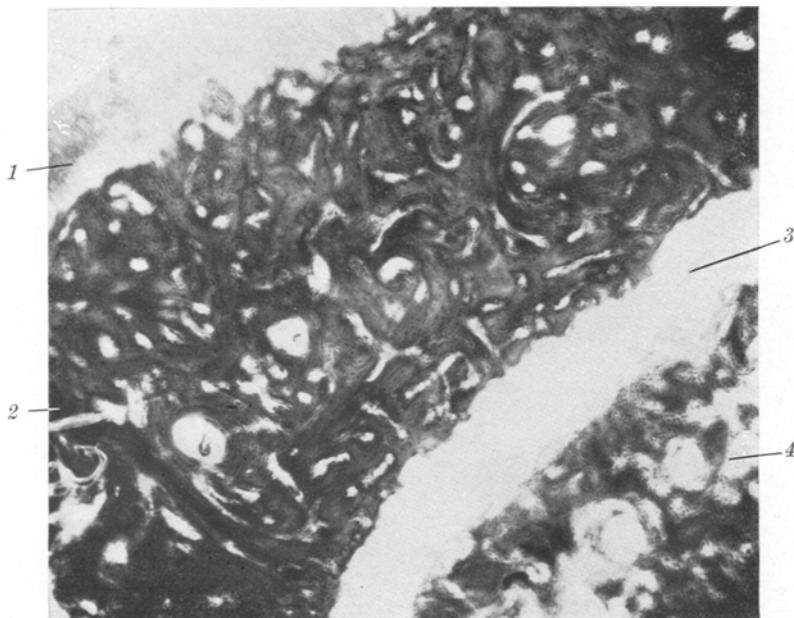


Abb. 6. Oberes Ende der hypervitaminösen Tibia. Knochenneubildung bei den Epiphysen. Umwandlung der spongiösen Knochenstruktur in einen beinahe kompakten Knochen. Die Markräume sind sehr verkleinert.

1 = Gelenkknorpel; 2 = Epyphise; 3 = Wachstumsknorpel; 4 = Diaphyse.

Veränderungen am spongiösen Knochengewebe.

Gewöhnlich findet man am spongiösen Knochengewebe eine bemerkenswerte Verdickung der Knochenbälkchen mit einer entsprechenden Verkleinerung der Markräume, so daß die Spongiosa als solche kaum noch anzusehen ist (Abb. 6). Diese anormale Formation kann nicht von einer Hyperaktivität der Osteoblasten abhängen, da diese nur vereinzelt an einigen Stellen, dicht gegen die neugebildeten Knochenbälkchen gelagert zu finden sind.

Die auf diese Weise verdickten Knochenbälkchen behalten die normale Parallelschichtung ihrer Lamelle bei. Wenn die neugebildeten

Schichten sehr zahlreich sind, verkleinert sich der entsprechende Markraum bis auf die Größe eines normalen Haversschen Kanals. In allen Fällen ist beiderseits von den Knorpeln ein dickes, kompaktes Knochenbälkchen festzustellen. Manchmal beobachtet man, daß diese dicken Bälkchen an einigen Stellen vollständig verschwunden sind, so daß hier der Rand des Knorpels in unmittelbarer Berührung mit den zelligen Teilen des entsprechenden Markraumes steht (Abb. 4). An keiner Stelle dieses neugebildeten Knochengewebes sind Zeichen von einer gleichzeitigen Aufsaugung zu erkennen.

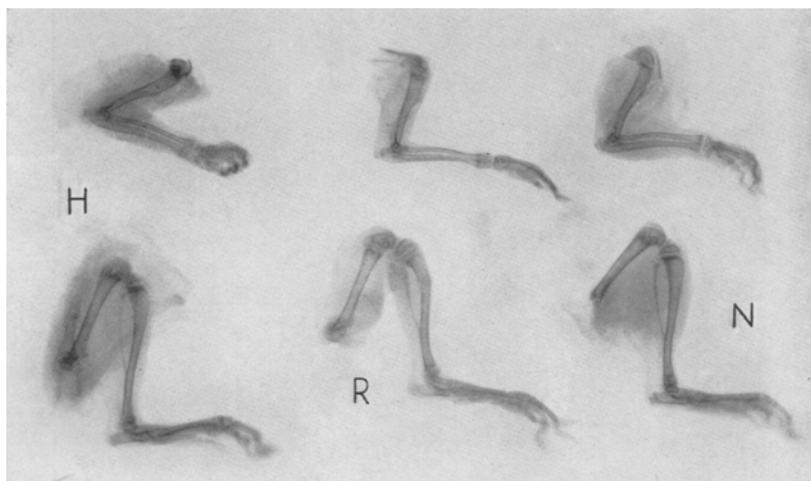


Abb. 7. Röntgenaufnahme von vorderen und hinteren Gliedmaßen weißer Ratten desselben Gewichts und Alters. *H* = im Hypervitaminose D; *R* = Rachitiszustand; *N* = Normalzustand.

Diese Beobachtungen erlauben uns, anzunehmen, daß bei der Hypervitaminose eine ständige Vermehrung des Knochengewebes am Ende des Röhrenknochens stattfindet, die von einer bemerkenswerten Veränderung der Breite des Wachstumsknorpels begleitet ist.

Abb. 7 zeigt die Röntgenaufnahme von den Gliedmaßen 3 weißer Ratten desselben Alters, die teils in normalem, rachitischem und Hypervitaminosezustand sich befanden.

Wachstumsstörungen.

Die eben geschilderten Störungen der Knochenbildungsvorgänge führen im Verlaufe der Hypervitaminose D zu einem Stillstand des Tierwachstums. Erwachsene weiße Ratten, die übermäßige Mengen bestrahlten Ergosterins erhalten, zeigen keine merkbaren morphologischen Veränderungen, aber die Ergosteringaben haben die Erzeugung von

Tieren mit Zwergwuchs zur Folge. Die morphologischen Charaktere dieser Zwerge unterscheiden sich von denjenigen der anderen schon bekannten und experimentell erzeugten Zwergratten.

Bis jetzt haben wir 3 verschiedene Arten von Wachstumsstörungen im Verlaufe der Hypervitaminose D beobachtet.

1. Stillstand des Wachstums bei jungen weißen Ratten (erworbener hypervitaminöser Zwergwuchs).

Weiße Ratten von 50—70 g Körpergewicht, die gewöhnliches Futter erhalten, zeigen einen Stillstand ihres Wachstums vom Augenblick an, wo sie eine tägliche Gabe von 5 mg bestrahlten Ergosterins erhalten. Die Glieder verlängern sich nicht mehr; die Wachstums-



Abb. 8. Angeborener Hypervitaminöser Zwergwuchs. (Mißgestalteter Zwerg.)

knorpel sind frühzeitig von Verkalkung und Verknöcherung ergriffen; die radiographische Testlinie der Tibia erscheint sehr dünn, so wie bei älteren Knochen. Das Körpergewicht verändert sich entweder nicht mehr oder sinkt allmählich. Der Tod erfolgt zwischen 10—60 Tagen bei dieser Behandlung, je nach den verabreichten Vitaminmengen.

2. Angeborener Stillstand des Wachstums durch Hypervitaminose der Mutter; mißgestaltete Zwerge (angeborener hypervitaminöser Zwergwuchs).

Einjährige erwachsene Ratten, die gewöhnliches Futter mit einem täglichen Zusatz von 5 mg bestrahlten Ergosterins erhalten, haben mißgestaltete Zwergtiere als Nachkommen, deren Entwicklung sehr langsam vor sich geht, oder vollständig still steht. Diese von Geburt an zwergwüchsigen Tiere zeigen folgende Charaktere (Abb. 8): Glieder sehr kurz (nur halb so lang wie die Glieder normaler Tiere); Glieder

verdickt, verkrümmt und verunstaltet. Der Körper selbst ist verhältnismäßig lang, aber stark verändert durch eine sehr ausgesprochene Kyphose; der Kopf ist unförmig vergrößert, auch der Schwanz. Alle diese Merkmale geben diesen Zwergen ein eigenständliches, charakteristisches Aussehen. Das Gewicht nimmt sehr langsam zu (in 2 Monaten



Abb. 9. Die Zwergratte von Abb. 8, 2 Monate alt, mit einer normalen Ratte desselben Alters verglichen (Röntgenaufnahme).

nur um 18—20 g; das ist ein Gewicht, welches normale, 10 Tage alte Tiere aufweisen (Abb. 9). Der Wachstumsknorpel und die Fontanelle verkalkten sehr frühzeitig; die Radiographie des Röhrenknochens zeigt eine sehr dünne Testlinie (Abb. 10—11); die Wirbelsäulenverkrümmung ist sehr ausgeprägt. Das allgemeine Leiden verschlimmert sich allmählich. Langsames Gehen, leichtes Ermüden, Durchfall. Der Tod tritt zwischen 40—90 Tagen ein.

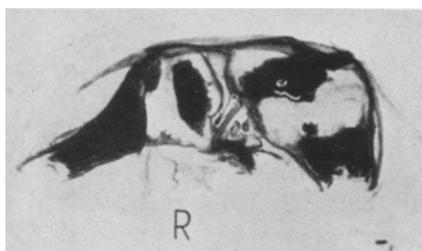
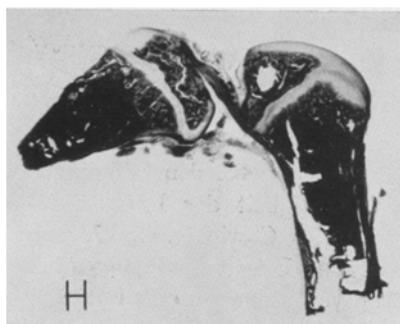


Abb. 10. Längsschnitt des Kniegelenks der hypervitaminösen Zwergratte (Abb. 8) mit der einer angeborenen rachitischen Zwergratte (Abb. 13) verglichen (4,5 mal vergrößert).
H — Hypervitaminose; *R* = Rachitis.

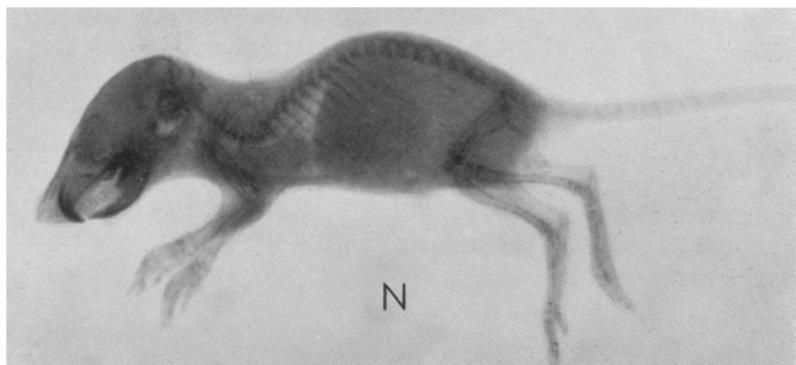
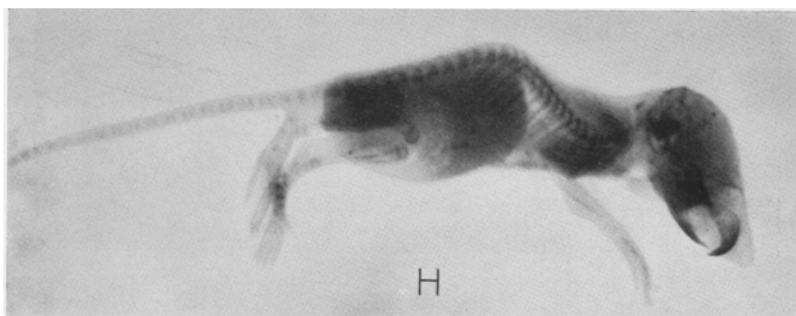


Abb. 11. Seitliche Röntgenaufnahme der hypervitaminösen Zwergratte mit der einer normalen Ratte derselben Größe verglichen. (*H* = Hypervitaminöse Ratte; *N* = Normale Ratte.)

3. Stillstand der Entwicklung bei normalen jungen Ratten, die von einer hypervitaminösen Ratte gesäugt werden (hypervitaminöser, frühzeitiger Zergwuchs). Mißgestaltete Zwerge.

7 Tage alte Ratten, von normalen Müttern geboren, werden einer hypervitaminösen Mutter als Säuglinge übergeben. Bereits nach einer Woche kann man schon die ersten Veränderungen bei den Säuglingen wahrnehmen: Gesträubtes Haarkleid; Feuchtigkeit der Haut; gelbliche Färbung der Haare und Stillstand des Gewichts. 2 Wochen später zeigen diese Tiere einen ausgeprägten Unterschied gegenüber den Tieren des gleichen Wurfes, die aber von einer gesunden Mutter ernährt wurden. Das Wachstum der kranken Tiere geht nicht vorwärts, der Körper zeigt ein mißgestaltetes Aussehen. Jedoch ist dieses nicht so stark ausgeprägt wie bei den schon beschriebenen angeborenen hypervitaminösen Zwergratten. (Abb. 8 und 12.)



Abb. 12.

Zum Vergleich möchten wir noch eine 4. Art von Zergwuchs beschreiben, welcher von uns bei Jungen von rachitischen, erwachsenen Ratten beobachtet wurde.

4. Wachstumshemmung bei den Jungen von rachitischen Ratten (angeborener rachitischer Zergwuchs).

Erwachsene Ratten, die 3—5 Monate lang einer rachitischen Diät nach *MacCollum* unterworfen waren, und die sich normaler Weise entwickelt und vermehrt hatten, trotzdem sie alle klinischen Merkmale der experimentellen Rachitis aufwiesen, zeugten Jungen, welche beträchtliche Wachstumsstörungen erfuhren; auf diese Weise entstanden auch Zwergratten, welche aber hinsichtlich der Maße von Gliedmaßen, Kopf usw. proportioniert sind (Abb. 13).

Der Körper und die Gliedmaßen, die viel kleiner als bei normalen Ratten gleichen Alters sind, verleihen dieser Ratte ein Aussehen, das sich sehr von dem der mißgestalteten hypervitaminösen Zwergratten unterscheidet. Gleichzeitig beobachtet man bei den fraglichen

Versuchsratten die charakteristischen Merkmale des Rachitismus (siehe histologisches Bild in Abb. 10). Der morphologische, radiologische, histologische Befund und die diätetisch vergleichenden Untersuchungen, bei den hypervitaminösen Zwergratten einerseits und den angeborenen rachitischen Zwergratten andererseits erlauben uns, das gegensätzliche Verhalten beider Zustände klar zu unterscheiden.

Diese Versuche zeigen, daß sowohl der Mangel als auch der Überschuß von Vitamin D einen bedeutenden Einfluß auf das Wachstum von Tieren ausübt, was bereits im intrauterinen Leben feststellbar ist. Diese Wachstumsstörungen zeichnen sich bei den angeborenen Hypervitaminose durch einen mißgestalteten Zwergwuchs aus mit frühzeitiger Verkalkung des Wachstumsknorpels, während bei den angeborenen rachitischen Zwergen eine proportionierte Wachstumshemmung entsteht.



Abb. 13. Angeborener Rachitischer Zwergwuchs (Proportionierter Zwergwuchs). Die hinteren Gliedmaßen zeigen die gewöhnlichen rachitischen Merkmale. (Histologisches Bild dieser Glieder bei Abb. 10).

Zusammenfassung.

1. Die Knochenbildung wird bei der Hypervitaminose D stark beeinflußt. Es entsteht als Folge der Hypervitaminose D ein aktiver Knochenneubildungsvorgang, welcher schließlich zu einer fast vollständigen Umwandlung des spongiösen Knochengewebes der Epiphysen und benachbarten Diaphysenteile in kompaktes Knochengewebe führt. Außerdem tritt eine frühzeitige Verkalkung des Wachstumsknorpels mit Ausschaltung der normalen Osteoidschicht auf.

2. Diese Beobachtungen erlauben uns, die Bedeutung der zahlreichen Kalkniederschläge in den fraglichen Geweben bei der Hypervitaminose besser zu verstehen. Solche Kalkniederschläge gehen hier nicht parallel mit einer Resorption des natürlichen Kalk- und Phosphatknochenlagers, wie wir es sonst bei einigen gut bekannten Vergiftungen zu sehen gewohnt sind (Adrenalin, Phosphor, Sublimat), wo diese sekundären Gewebsverkalkungen immer mit einer Osteoporose des Knochens einhergehen.

Anatomische Veränderungen des oberen Endes der Tibia in der Hypervitaminose D, im Vergleich mit der normalen und der rachitischen Tibia. (Weiße Ratten, 12 Wochen alt.)

Durchmesser des oberen Tibiaendes	Epiphyse und oberer Teil der Diaphyse	Dicke	Knorpelzellen	Wachstumsknorpel	Diaphysärer Rand des Knorpels
Normaler Knochen	3—5 Knochenbälkchen bei jedem Schnitt. Breite Markräume	301	In parallelen Säulen eingeriehlt, wovon jede etwa 25 Zellen enthält. Fortschreitende Differenzierung der Knorpelzellen nach dem Diaphysenrand	Normale, osteoide und Verknöcherungszone. Gerade Trennlinie zwischen Knorpel und Osteoidenzone	
Hypervitaminöser Knochen	Verdickung und Vermehrung der Knochenbälkchen mit einer entsprechenden Verkleinerung der Markräume. Verwandlung des spongösen in fast kompakten Knochen	146	Zellensäulen verwischt, nur etwa 12 Zellen enthaltend. Schwache Differenzierung dieser Zellen	Keine normalen osteoiden und Verknöcherungszenen vorhanden. Unmittelbare Umwandlung des Knorpels in Knochen. An einigen Stellen der Knorpel begrenzt direkt breite diaphysale Markräume	Gegenseitiges Eindringen des Knorpels und der Osteoidenteile. Die Grenze zwischen Knorpel und Diaphyse ist eine sehr unregelmäßige
Rachitischer Knochen	Knochenbälkchen dünner und spärlicher als normal	Zwischen 800 und 1,634	Parallele Zellensäulen, die an einigen Stellen von mehr als 100 Zellen gebildet sind		

3. Die wichtigen Wachstumsstörungen, die bei den hypervitaminösen Ratten beobachtet werden, hängen wahrscheinlich größtenteils von den beschriebenen Knochenbildungss. rungen ab. Die Versuche be- weisen, daß das D-Vitamin einen entscheidenden Einfluß auf das Wachstum von Tieren ausübt, welcher sich sowohl intrauterin als auch extra-uterin bemerkbar machen kann. Die Wachstumsstörungen charakteri- sieren sich bei der angeborenen Hypervitaminose dadurch, daß miß- gestaltete Zwergtiere entstehen mit sehr verkürzten Gliedern, einem großen Kopf und dickem Schwanz. Diese Veränderungen stehen im Gegensatz zu der proportionierten Wachstumshemmung, die bei den angeborenen rachitischen Zwergen beobachtet wird.

Schrifttum.

¹ *Kreitmair* und *Moll*, Münch. med. Wschr. **1928**, Nr 15. — ² *Moreau, Rubino, Varela* und *Collazo*, Rev. Asoc. méd. argent. **41**, 273 (1928). — ³ *Gierke*, In *Aschoff*, Pathologische Anatomie. 5. Aufl. Bd. 1, 431. — ⁴ *Leriche* und *Policard*, Physiologie normale et Pathologie de l'os. S. 19. — *Collazo, Rubino u. Varela*, Osteogenesis y crecimiento en la Hypervitaminosis D, Rev. Asoc. méd. argent. **41**, 277—280 (1929), Enero-Febrero.
