

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. med. G. HOLLE).

**Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß
des Methyl-Thiouracil auf den Verlauf der Trächtigkeit
und die Entwicklung der Feten beim Meerschweinchen
unter besonderer Berücksichtigung des Knochenwachstums.**

Von

ULRICH HAGEMANN.

Mit 5 Textabbildungen.

(*Eingegangen am 5. Februar 1955.*)

In früheren Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß unter der Einwirkung von Methyl-Thiouracil (MTU) die typische morphokinetische Reaktion an den Schilddrüsen und Nebennieren trächtiger Meerschweinchen (MS) ausbleibt. Statt dessen ergibt die histologische Untersuchung eine Modifikation des geläufigen endokrinen Wirkbildes. Sie besteht in einer progressiven Transformation der Nebennierenrinde und einer gegenüber gleich lange behandelten männlichen Versuchstieren geringeren Schilddrüsenreaktion. Aus diesen Beobachtungen wurde geschlossen, daß sich das endokrine Regulationsgefüge während der Trächtigkeit gegenüber patho-morphologischen Einflüssen des Medikamentes durchsetzt.

Bei einzelnen Versuchstieren fanden wir jedoch Störungen im Verlauf der Tragezeit, die durch die Geburt von unreifen, teils lebenden, teils toten Früchten vorzeitig endete. Im Hinblick auf das Problem einer intrauterinen Fruchtschädigung wurde diese zunächst zufällige Feststellung in einer größeren Versuchsreihe weiter verfolgt. Da zu vermuten war, daß unter der Einwirkung der Thioharnstoffderivate durch die biologische Ausschaltung der Schilddrüse der Verknöcherungsvorgang abgeändert wird, wurde der pathologisch-anatomische Ablauf der Ossifikation bei den Jungtieren besonders berücksichtigt. Dies schien uns um so notwendiger, als einschlägige Untersuchungsergebnisse bisher nicht vorliegen, während andererseits von einigen Beobachtern über das Zurückbleiben des Körperwachstums bei mit MTU behandelten Jungtieren berichtet wird.

Material und Versuchsanordnung.

Insgesamt wurden 35 weibliche, geschlechtsreife MS 24—400 Tage mit MTU behandelt. Bei Versuchsbeginn waren 16 MS (Gruppe I) bereits trächtig, während 19 MS (Gruppe II) bei Beginn der MTU-Zufuhr keinerlei Anzeichen einer Trächtigkeit aufwiesen. Dosierung: In der 1. Behandlungswoche erhielten die Tiere peroral je

Tag 0,5—1,0 g MTU/kg Körpergewicht, von der 2. Woche ab 0,2—0,5 g MTU/kg Körpergewicht. Im allgemeinen wurde das Medikament gut vertragen.

Zu jeweils 3 weiblichen MS wurde am 1. Versuchstag ein männliches Tier gesetzt (Gruppe II), das auch während der weiteren Versuchsdauer in dem Käfig blieb. Die männlichen Tiere erhielten kein MTU. Im allgemeinen verblieben die Feten nach der Geburt bei den Muttertieren. Die Untersuchung erfolgte sofort nach der Geburt, sowie 3, 7, 14, 21, 28, 35 und 45 Tage danach.

Um die Einwirkungen der verabfolgten Substanzen genauer studieren zu können, wurden die Jungtiere in bestimmte Gruppen zusammengefaßt:

1. Gruppe. Sie diente uns zur Kontrolle. Dabei handelte es sich jeweils um gleichaltrige Jungtiere von un behandelten MS. Sie wurden zu gleicher Zeit sowie unter denselben äußeren Bedingungen gehalten.

2. Gruppe. Die Muttertiere erhielten während der gesamten Tragezeit sowie während der Säugeperiode das Medikament in der oben angegebenen Dosierung. Auf diese Weise standen die Neonati während der intra- und extrauterinen Entwicklungsperiode unter dem Einfluß des MTU. Dabei wird angenommen, daß das Pharmakon sowohl diaplacentar als auch auf dem Wege über die Muttermilch seine Wirkung entfaltet.

3. Gruppe. Nach längerer Behandlung wurde das MTU im Verlauf der Trächtigkeit verschieden lange Zeit vor dem erwarteten Geburtstermin abgesetzt (3 bis 40 Tage). Bei dieser Anordnung konnte erwartet werden, daß bei einem Teil der Feten kein wesentlicher Einfluß seitens der antithyreoidalen Substanz zur Zeit der Geburt mehr bestand. Aus der Literatur sowie aus eigenen Erfahrungen war uns die Rückbildungsfähigkeit MTU-bedingter Reaktionen bekannt.

Der Einfluß des MTU auf den Verlauf der Trächtigkeit.

Die normale Tragezeit des MS schwankt nach den Angaben in der Literatur zwischen 60 und 65 Tagen (PREISSÄCKER, DÖDERLEIN u. a.). Bereits gegen Ende des 2. Lebensmonates werden die Tiere geschlechtsreif. Der ovarische Cyclus wird mit einer Periodik von 14—17 Tagen angegeben; dabei dauert die eigentliche Brunst etwa 24 Std. Wie bei allen Nagern, besteht auch beim MS bald nach einem Wurf die Möglichkeit einer erneuten Trächtigkeit. Während bei der ersten Gestation im allgemeinen 1—2 Feten geworfen werden, können später meistens 3—4 Jungtiere gezählt werden. In unserem Material fanden wir öfters Würfe mit 4—5 Feten, 1mal sogar 7 Jungtiere.

Von den 35 in den Versuch genommenen Tieren trat in 2 Fällen (während einer Beobachtungszeit von 170 Tagen) keine Trächtigkeit ein. Bei den restlichen 33 MS wurden insgesamt 52 Würfe mit 102 Jungtieren beobachtet. Darüber hinaus waren 13 Muttertiere bei der Sektion erneut trächtig.

Entsprechend unserer Versuchsanordnung werden die Ergebnisse des Schwangerschaftsverlaufes sowohl für die bereits bei Versuchsbeginn trächtigen (Gruppe I) als auch für die zu diesem Zeitpunkt noch nichtgraviden Tiere (Gruppe II) gesondert betrachtet. Da schließlich für beide Gruppen nach der ersten Trächtigkeit die Versuchsbedingungen die gleichen geblieben sind, werden die weiteren Schwangerschaften ebenfalls in einer Gruppe (III) zusammengefaßt.

Muttertiere I: 16 MS, bei Beginn der MTU-Zufuhr bereits trächtig:

Nur in $\frac{1}{3}$ der beobachteten ersten Schwangerschaften werden reife und lebende Jungtiere nach einem ungestörten Verlauf der Tragezeit geworfen. In $\frac{2}{3}$ der Fälle ist die Tragezeit verkürzt und die Früchte sind unterentwickelt (sehr klein, geringes Geburtsgewicht, unterentwickeltes Haarkleid). Von diesen leben bei der Geburt rund die Hälfte, die übrigen sind tot.

Muttertiere II: 17 MS. Die Trächtigkeit trat erst während der Behandlung ein:

Auch für dieses Kollektiv lassen sich prinzipiell die gleichen Verhältnisse festlegen wie in der vorhergehenden Gruppe. Nur in $\frac{1}{3}$ der Fälle verläuft die Tragezeit ungestört, es werden hier am Ende der Schwangerschaft reife und lebende Jungtiere geboren. In den übrigen Fällen wird die Trächtigkeit mit der Geburt unreifer Früchte vorzeitig beendet. Von diesen lebt ein Teil, während die übrigen tot sind.

Muttertiere III: 10 MS der Gruppe I und II mit insgesamt 19 Würfen (Zweit- und Mehrgeburten):

Bei späteren Schwangerschaften wird ein gestörter Verlauf der Tragezeit offensichtlich seltener. Die Zahl der Reifegeburten überwiegt jetzt diejenigen der vorzeitig Geborenen.

Tabelle 1.

	Reif lebend	Unter- ent- wickelt tot	Unter- ent- wickelt lebend	Summe (Zahl der Würfe)
Gruppe I	5	5	6	16
Gruppe II	6	6	5	17
Gruppe III	12	7	0	19
Summe	23	18	11	52

Die Tabelle 1 zeigt die zahlenmäßige Aufgliederung für die Gruppen I—III.

In unseren Versuchen fällt der hohe Prozentsatz der vorzeitig beendeten Trächtigkeiten beim MS unter der MTU-Behandlung auf. In der Literatur finde ich nur die Mitteilung von WEBSTER und YOUNG, die über ähnliche Beobachtungen verfügen. Bei 15 MS (Versuchsdauer 3—149 Tage) traten in 5 Fällen Frühgeburten auf. Drei Tiere zeigten eine normale Trächtigkeit, bei der Geburt waren jedoch die Feten tot. In 7 Fällen wurden lebende Jungtiere nach normaler Trächtigkeitsdauer geboren. Die weitgehende Übereinstimmung der Befunde fällt bei diesen Untersuchungsreihen auf, so daß wir die Ergebnisse auf die Art der Versuchsanordnung zurückführen können.

Unsere Beobachtungen stehen im Gegensatz zu der Mitteilung von BICKENBACH, HESS und LOESER, die bei Ratten unter der MTU-Behandlung keine Störungen des Schwangerschaftsverlaufes feststellten. Auch ALBRIEUX, ESTEFAN und

MARRERO fanden beim trächtigen MS keinerlei Abweichungen der Tragezeit. Die unterschiedlichen Ergebnisse sind vermutlich auf eine verschiedene Dosierung des Pharmakons während der Versuche zurückzuführen. Unter diesem Gesichtspunkt läßt sich ermitteln, daß sowohl WEBSTER und YOUNG als auch wir größere Gaben anwandten als die anderen.

Als Folge einer beim Menschen während der Gravidität durchgeführten MTU-Behandlung wird im allgemeinen auf eine Schilddrüsenhyperplasie beim Kinde hingewiesen (DAVIS und FORBES, WATSON, BICKENBACH, FREIESLEBEN und KJERULF-JENSEN). Dagegen konnte WILLENER in 2 Fällen von HADORN bei den Kindern keine Veränderungen nachweisen. Wir selbst verfügen über eine Beobachtung aus der Forschungsanstalt für den Diabetes in Kalsburg (Direktor: Prof. Dr. med. G. KATSCH), bei der im Verlauf einer durch einen Basedow und Diabetes mellitus komplizierten Schwangerschaft auswärts laufend MTU gegeben wurde. Im 7. Schwangerschaftsmonat trat ein intrauteriner Fruchttod ein. Wir können dieses Ereignis jedoch nicht mit Sicherheit als Folge einer MTU-Behandlung (analog den durchgeföhrten MS-Versuchen) ansehen, zumal gerade die Gravidität beim Diabetes mellitus häufig ein vorzeitiges Ende nimmt. Leider blieb die histologische Untersuchung wegen der fortgeschrittenen Maceration der Frucht ergebnislos. Auffallend war jedoch die makroskopisch erkennbare Schilddrüsenhyperplasie mit einem Organgewicht von 5,5 g.

Um die beobachteten Störungen der Trächtigkeit unter der MTU-Behandlung in unseren Versuchen zu verstehen, ist es erforderlich, sich die Beziehungen zwischen der Schilddrüse einerseits und den Genitalorganen andererseits zu vergegenwärtigen.

Nach GUMPRECHT und LOESER erhöht das Schilddrüsenhormon außerhalb der Gravidität die Empfindlichkeit des Ovars gegenüber den gonadotropen Wirkstoffen des Hypophysenvorderlappens. Beim Thyroxinmangel kommt es zu einer Verzögerung der Eireifungsvorgänge. Für die Entwicklung der Feten während der Schwangerschaft ist ein ausreichender mütterlicher Thyroxinspiegel erforderlich. Im Experiment führt die MTU-Behandlung bei den Nagern zu Abänderungen des Scheidencyclus (KOPP, LOESER und MEYER). Nach therapeutischer Anwendung beim Menschen wurden Störungen der Menstruation beobachtet (HAGEN und SCHÜRMAYER, HOET und LEDERER). Ähnliche Veränderungen sind auch bei der menschlichen Hypothyreose bekannt. Beim sog. infantilen Myxödem kommt es selten zu einer Gravidität. Kommt sie dennoch zustande, werden die Früchte nur ausnahmsweise ausgetragen.

Wie haben durchaus Grund anzunehmen, daß sich beim Muttertier unter der Einwirkung des MTU eine funktionelle Thyreostase entwickelt. In Analogie zu den mitgeteilten Beobachtungen sind wir daher der Meinung, daß dadurch der Verlauf einer bereits bestehenden oder sich entwickelnden Trächtigkeit modifiziert wird. Ähnlich wie beim Diabetes mellitus und den Alloxanversuchen von KLOOS und BARTELHEIMER möchten wir die Störung im Verlauf der

Trächtigkeit während der MTU-Behandlung als Folge einer Dyshormonose (KATSCH) ansehen und bewerten.

Der Einfluß des MTU auf die Feten.

Die bisherigen Untersuchungen ergeben, daß die Zufuhr von Thyreo-inhibitoren bei trächtigen MS zu einer endokrinen Regulationsstörung führt. Sie findet bei einem recht hohen Prozentsatz der beobachteten Trächtigkeiten ihren Ausdruck in einer vorzeitigen Beendigung der Tragezeit. Die nächstliegende Frage ist die nach den Möglichkeiten einer Fruchtschädigung.

Die Feten MTU-behandelter Muttertiere sind im allgemeinen kleiner als die Kontrollen. Sie weisen zugleich ein geringeres Geburtsgewicht auf. So haben sie in unserem Material ein Durchschnittsgewicht von 75 g bei einer Schwankungsbreite von 55—100 g (Kontrolltiere: 80—110 g, im Durchschnitt 90 g). Die untergewichtigen Tiere sind meist typische Kümmerer. In der Aufzucht sehr empfindlich, gehen sie häufig bereits am 1. oder 2. Lebenstage ein. Im übrigen nehmen sie während der Saugperiode nur langsam an Gewicht zu. Die unvollkommene Ausreifung der Feten bei der Geburt ist sicherlich als Folge des fehlenden mütterlichen Schilddrüsenwirkstoffes zu werten. Unsere Befunde stehen im Einklang mit den Untersuchungsergebnissen von HUGHES, MIKEVICCS, WAGNER-JAUREGG, die an Ratten bzw. Vögeln eine deutliche fetale Wachstumshemmung beobachteten. Befunde aus der humanen Pathologie liegen bisher nicht vor.

Histologisch zeigt sich bei den Neugeborenen durchweg eine sehr ausgesprochene, zum Teil adenomatöse Schilddrüsenhyperplasie mit Organgewichten bis zu 300 mg als Ausdruck einer unter der Behandlung auftretenden thyreotropen Stimulierung des Organs. Die morphologisch nachweisbare Leistungssteigerung der Schilddrüse bei den Feten entspricht jedoch funktionell einer Thyreostase und weist somit auf die diaplacentare Einwirkung des Pharmakons hin. Dies ist gegenüber der Ansicht von BICKENBACH, HESS und LOESER zu betonen, die eine diaplacentare Einwirkung des MTU bei den Ratten ablehnen.

In der Leber finden wir gelegentlich persistierende Blutbildungsherde. In den Nebennieren fällt die starke Einwanderung von chromaffinen Zellen ins Nebennierenmark auf. Sicherlich dürfen wir diese Befunde als Zeichen einer Entwicklungsstörung und -hemmung bei mangelndem Schilddrüsenhormon während der Behandlung deuten.

Das während der Säugeperiode zugeführte MTU wird mit der Muttermilch ausgeschieden und übt eine weitere Entwicklungs-hemmung bei den Jungtieren aus, wie das Verhalten des Körpergewichtes während dieser Zeit zeigt. Vergleichen wir die Gewichtswerte der Feten behandelter Muttertiere (Gruppe 2) mit denjenigen der Kontrolltiere, so

liegen die Durchschnittszahlen an den einzelnen Stichtagen deutlich unter denen der Kontrollen. Selbst nach einer Beobachtungsdauer von 21—28 Tagen finden wir noch keinen aus dem Rahmen fallenden Gewichtsanstieg, obwohl damit zu rechnen ist, daß zu diesem Zeitpunkt wegen der Entwöhnung der Jungtiere die MTU-Einwirkung gegenüber den ersten beiden Lebenswochen erheblich nachgelassen hat. Vermutlich ist dafür die längere Latenzzeit der wieder einsetzenden Thyroxinwirkung bei abklingendem thyreostatischem Effekt des MTU verantwortlich zu machen.

Hinsichtlich der Jungtiergruppe 3 (MTU während der Tragezeit verschieden lange Zeit vor dem erwarteten Geburtstermin abgesetzt) finden sich folgende Verhältnisse: Die durchschnittlichen Geburtsgewichte liegen zwischen denen der Kontrollen und des Kollektivs 2. Dabei nähern sich die Werte um so mehr denjenigen der unbehandelten Tiere, je früher das Medikament während der Tragezeit abgesetzt wurde. Dasselbe gilt auch für die Zeit der Saugperiode.

Während der Säugeperiode den Muttertieren gereichtes MTU verursacht bei jungen Ratten innerhalb von 1—2 Wochen in den Versuchen von BICKENBACH, HESS und LOESER Wachstumsstörungen, die sich im extremen Fall als Kretinismus manifestieren. Die Autoren betonen die Rückbildungsfähigkeit der Veränderungen nach Aufhören der MTU-Zufuhr. Auch die unmittelbare Gabe dieses Pharmakons an die Jungtiere führt zu demselben Effekt. GODDARD beobachtete einen eindeutigen, wenn auch nicht sehr stark ausgeprägten Zwergwuchs bei jungen Ratten, denen er 11 Tage nach der Geburt Propyl-Thiouracil gab. Bereits 10 Tage nach Beginn der Behandlung ließ sich die Wachstumshemmung nachweisen. Der Allgemeinzustand, das Auftreten der sexuellen Reife, sowie das Blutbild erfahren nach seinen Angaben keine wesentlichen Veränderungen gegenüber Kontrollen. Besonders bemerkenswert bezüglich einer geschlechtsgebundenen Ansprechbarkeit auf die Thyreoinhibitory sind die Beobachtungen von D'ANGELO, GORDON und CHARIPPER. Hier wurde jungen Hähnchen und Hühnchen 1—2 Wochen nach dem Schläpfen Thiouracil gegeben. Dabei trat bei den Hähnchen eine Hemmung des Wachstums wesentlich früher auf als bei den Hühnchen.

Im Hinblick auf unsere Befunde an den Nebennieren beim neugeborenen Jungtier läßt sich die verzögerte Reifung dieses Organs auch während der Säugeperiode gut verfolgen. So hält selbst bei 28 Tage alten MS noch in manchen Fällen die Einwanderung chromaffiner Zellen an, während sie bei den Kontrollen zu diesem Zeitpunkt nicht mehr festgestellt wird.

Die Störungen des Knochenwachstums.

Es besteht kein Zweifel, daß die unter der MTU-Zufuhr resultierende Entwicklungshemmung die Folge eines während der Versuchsdauer auftretenden Thyroxinmangels ist. Deshalb ist auch zu vermuten, daß sich im Verlauf der Behandlung Veränderungen des Skeletwachstums herausbilden, zumal die Knochenentwicklung in besonderem Maße von der funktionellen Leistung der Schilddrüse abhängig ist.

Für das Auftreten entsprechender Knochenveränderungen ist der Zeitpunkt des Wirksamwerdens einer endokrinen Dysregulation von entscheidender Be-

deutung. Entwickelt sich die Störung bald nach der Geburt, dann erfolgt eine allgemeine Entwicklungshemmung bzw. ein Stillstand des Wachstums (SCHIRR, HOFMEISTER, v. EISELSBERG). Das Thyroxin regt die Entwicklung der Knochenkerne sowie die Knorpelzellbildung im Bereich der Ossifikationszonen an und beteiligt sich auf diese Weise an der Regulation des Längenwachstums. Auch neuere experimentelle Untersuchungen haben unsere bisherigen Kenntnisse nicht wesentlich erweitern können (SIMPSON, RAY, BECKS). Weitere Zusammenhänge zwischen der Schilddrüsenfunktion und dem Skelettwachstum ergeben sich aus der Beobachtung, daß die Thyreoida im Wachstumsalter relativ am größten ist und gerade zur Zeit der größten Streckung im Präpubertätsalter ihr höchstes Gewicht aufweist. Nach vollendetem Wachstum nimmt das Organ wieder an Größe ab. Schließlich ist auch an den Kleinwuchs beim Kretinismus zu erinnern.

Bei Knochenbrüchen wird die Callusbildung durch den Wirkstoff gefördert (EITEL, EITEL und LEXER, HANKE), dagegen beim Schilddrüsenmangel gehemmt (STEINLEIN, KOSDOBA und SCHTSCHERBINA, BAUMANN). Morphologisch zeigt die Thyreoida gleichzeitig mit dem Erscheinen des osteoiden Gewebes die Zeichen einer stärkeren funktionellen Leistung (GOLDENER, NAKAMURA).

Um der Frage möglicher, unter der MTU-Zufuhr entstandener Knochenveränderungen nachzugehen, wurde das Knochensystem im Bereich der enchondralen Ossifikation an den Extremitäten und der Wirbelsäule zur Zeit der Geburt sowie im Verlauf der ersten vier Lebenswochen untersucht.

Die histologische Untersuchung erfolgte im Bereich der distalen Femurepiphyse sowie an den Wirbeln der unteren Hals- und oberen Brustwirbelsäule nach elektrolytischer Entkalkung des Gewebes. Färbungen: Hämaalaun-Eosin, van Gieson, Trichromfärbung nach GOLDNER, Toluidinblau, Darstellung der Knochenfibrillen mit der Silberimprägnation nach GOMORI, Kalknachweis nach ERÖS.

Zeitpunkt der Untersuchung: Unmittelbar nach der Geburt, nach 7, 14, 21 und 28 Lebenstagen. Die Beurteilung richtete sich nach den gleichaltrigen Kontrolltieren (Gruppe I). Das Kollektiv 3 diente im wesentlichen zur Nachprüfung der gewonnenen Ergebnisse. Die Befunde dieser Gruppe werden im folgenden nicht mit angeführt.

Von jedem Untersuchungszeitpunkt standen uns mindestens 2–4 Jungtiere zur Verfügung. Die nachfolgende Beschreibung beschränkt sich auf die an den Extremitäten erhobenen Befunde. Sie ergeben insgesamt ein etwas eindringlicheres Bild als im Bereich der Wirbelsäule. Jedoch ließen sich dort prinzipiell die gleichen Veränderungen feststellen.

Histologische Untersuchungsbefunde der enchondralen Ossifikation.

I. Meerschweinchen sofort nach der Geburt getötet.

a) **Unbehandeltes Kontrolltier (MS 356 D; Abb. 1).** Im Bereich des distalen Femuranteiles findet sich eine regelmäßig strukturierte, diaphysenwärts trichterförmig eingezogene Epiphysenfuge. Sie mißt durchschnittlich 300μ und weist die typische Zellanordnung auf. Die Eröffnungslinie ist glatt. Deutliche Verkalkung der Knorpelgrundsubstanzpfeiler, die sich bei der Goldner-Färbung grün tingiert; nach Toluidinblau eine deutliche Metachromasie der Epiphysenfuge.

Auf die stehen gebliebenen, längs verlaufenden Knorpelgrundsubstanzpfeiler lagert sich reife Knochensubstanz an (Goldner- braun, Toluidinblau: farblos oder schwach blau). Messen wir die Lokalisation der ersten Knochensubstanzsäume hinsichtlich ihrer Lage zur Epiphysenfuge, dann beginnt etwa 150μ von der

Eröffnungslinie an gerechnet die Ablagerung des Knochengewebes. Dabei ergibt sich ein charakteristisches Bild: lichtgrün angefärbte Knorpelpfeiler sind von einem kräftig braun-rot angefärbten Saum umgeben. Verfolgen wir die Knochenbälkchen weiter diaphysenwärts, dann nehmen die braun tingierten Anteile immer mehr zu, während die Knorpelgrundsubstanz nur noch in Form grün angefärberter Zwickel vorhanden ist. Bei der Toluidinblaufärbung bleiben die Spongiosabälkchen entweder farblos oder erscheinen bei etwas kräftiger Färbung in einem mattblauen Farnton.

Der epiphysäre Knochenkern zeigt einen unvollkommen ausgebildeten, dem Fugenknorpelanliegenden Knochendeckel aus typischem Knochengewebe. Im Bereich der gelenknahen Ossifikationszone sind die primären Knochenbälkchen von einem kräftigen Saum reifen Knochens umgeben. Ganz gelegentlich findet sich eine schwache Metachromasie im Protoplasma der Osteoblasten.

b) MS 259 D: Das Muttertier erhält während der Tragezeit MTU (Abb. 2). Die Epiphysenfuge ist etwa gleich breit wie beim Kontrolltier (300μ). Die Reihen des Großzellenknorpels sind etwas unregelmäßig angeordnet. Schmale, gelegentlich etwas breitere, im Goldner-Präparat hellgrün angefärbte Knorpelgrundsubstanzpfeiler finden sich im Bereich der Eröffnungszone, an die erst ziemlich weit diaphysenwärts spärliche, schmale braune Säume von Knochensubstanz angelagert

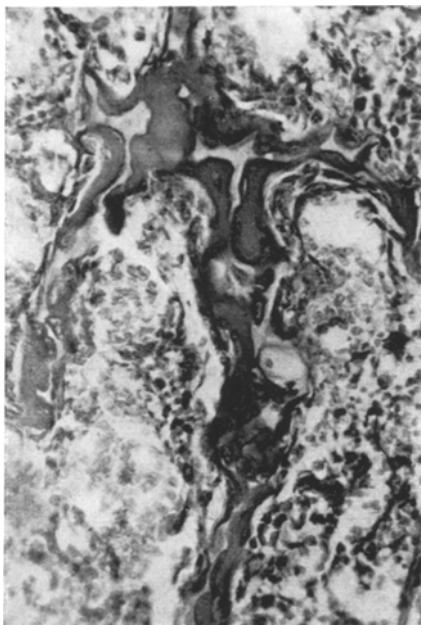


Abb. 1. MS 356 D (Goldner-Färbung). Spongiosa des Epiphysenkernes, bestehend aus reifem (braun gefärbten) Knochengewebe.

werden. Die Distanz zur Ossifikationslinie beträgt hier etwa 650μ , die Dicke der Säume etwa $1,75\mu$. Der größte Teil der Bälkchen zeigt eine recht typische Struktur, wie sie bei den MTU-Jungtieren immer wieder beobachtet wird. Die Bälkchen lassen eine deutliche territoriale Gliederung erkennen, die dadurch zustande kommt, daß einzeln liegende, zu Osteocyten umgewandelte Osteoblasten von einem grünen Hof umgeben sind. Zwischen diesen Territorien ist reichlich Knorpelgrundsubstanz zu finden. Weiter diaphysenwärts treten innerhalb dieser grünen Höfe auch braune Farbtöne auf, bis schließlich die enchondralen Bälkchen vollkommen braun gefärbt sind. Meistens ist innerhalb der Goldner-grün angefärbten Bezirke nach Anwendung von Toluidinblau eine schwache Metachromasie nachweisbar. Gelegentlich fehlt jedoch jegliche Anfärbung.

Die Epiphysenfuge läßt einen unvollkommenen, fast durchgehend grün angefärbten Knochendeckel auf der gelenknahen Seite erkennen. Innerhalb der Ossifikationszone des Epiphysenkernes sieht man grün angefärbte Säume und Ballen den verkalkten Knorpelpfeilern angelagert. Auch die Spongiosa des Knochenkernes ist vorwiegend grün angefärbt.

Vergleichen wir den Vorgang der enchondralen Ossifikation des Kontrolltieres mit den Befunden bei dem Versuchstier, dann ergeben

sich einige charakteristische Unterschiede. Beim Kontrolltier wird zur Zeit der Geburt im Bereich der Verknöcherungszone typisches, reifes Knochengewebe in Form von Goldner- braunen Farbsäumen auf die schlanken Knorpelgrundsubstanzpfeiler abgelagert. Innerhalb der Diaphyse und des epiphysären Knochenkernes bestehen die Spongiosa- bälkchen aus reifen, braun angefärbtem Gewebe. Sie enthalten nur noch spärliche, zwickelartige Reste der Knorpelgrundsubstanz. Im Gegensatz dazu ist bei flüchtiger Betrachtung die braune Anfärbung des Gewebes bei den Feten behandelter Muttertiere stark reduziert zugunsten einer

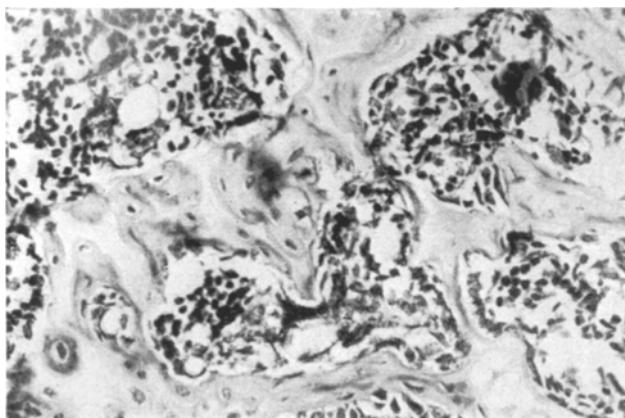


Abb. 2. MS 259 D (Goldner-Färbung). Spongiosa des Epiphysenkernes, bestehend aus osteoiden (grün gefärbten) Territorien.

ausgedehnten Grünfärbung. Ganz gelegentlich weisen diese Bezirke eine schwache Metachromasie auf.

Mittels der GOLDNERSchen Trichromfärbung gelingt es also, qualitative Unterschiede des Ossifikationsvorganges bei den Feten MTU-behandelter Muttertiere zu erfassen. Das reife Knochengewebe erscheint im Goldner-Präparat braunrot (im Toluidinblau-Präparat mattblau oder ungefärbt). Unreifes Knochengewebe oder Osteoid färbt sich dagegen bei der gleichen Methode grün an (farblos oder schwach metachromatisch nach Toluidinblau).

Wir haben diese Beobachtungen auch am menschlichen Knochengewebe überprüft. Dabei färbte sich regelmäßig rachitisches Osteoid ebenfalls grün an. Auch die Darstellung des osteoiden Gewebes in einem Osteoidsarkom (2242/53) führte zu dem gleichen Ergebnis. Es dürfte sich demnach nicht um einen zufälligen färberischen Effekt in unserem MS-Präparaten handeln.

Es kann somit festgestellt werden, daß nach der MTU-Behandlung des Muttertieres beim Feten die Ablagerung eines reifen Knochengewebes innerhalb der Verknöcherungszone stark eingeschränkt ist. Statt dessen wird osteoides Gewebe gebildet, das erst später in Knochen überführt wird.

Nach unseren Beobachtungen geben die Goldner-Präparate auch vom speziellen Aufbau der Knochenbälkchen einen klaren Eindruck. Sie bestehen nämlich bei den Versuchstieren aus einzelnen gegliederten Territorien, wie sie etwa vom Knorpel her bekannt sind. Um die Osteocyten herum finden wir kräftig angefärbte grüne Höfe, die innerhalb des Bälkchens häufig isoliert liegen, jedoch auch mit benachbarten Territorien konfluieren können. Verbunden werden diese Herde häufig durch eine kaum anfärbbare, ziemlich ausgedehnte Knorpelgrundsubstanz.

II. Meerschweinchen, 7 Tage nach der Geburt getötet.

a) **Unbehandeltes Kontrolltier (MS 355 B).** Auf der Epiphysenfuge liegt jetzt ein fast durchgehender ziemlich kräftig ausgebildeter Knochendeckel. Die Spongiosa enthält spärliche Reste verkalter Knorpelgrundsubstanz. Im Mark ist bereits reichlich Fettgewebe vorhanden.

Epiphysenfuge etwa 400μ breit. Innerhalb der diaphysären Eröffnungszone erfolgt eine lebhafte Ablagerung von reifer Knochensubstanz. Die Spongiosa des Knochenmarkes ist durchweg braun angefärbt.

b) **MS 313 B: Das Muttertier erhielt während der Tragezeit und Säugeperiode MTU.** Im Gegensatz zum Kontrolltier ist die der Epiphyse anliegende Lamelle aus einem unvollkommen strukturierten Osteoidgewebe gebildet. Innerhalb der gelenknahen Eröffnungszone finden sich plumpe Knorpelgrundsubstanzpfeiler, denen schmale osteoide Säume angelagert werden. Auch hier ist eine territoriale Gliederung der Spongiosa erkennbar.

Die Breite der Epiphysenfuge beträgt durchschnittlich 300μ . Die Ablagerung des Osteoids innerhalb der diaphysären Ossifikationszone erfolgt erst in einer Distanz von etwa 325μ . Länge der Knorpelpfeiler 400μ . Weit von der Epiphysenfuge entfernt wird erst reifes Knochengewebe gebildet.

Die Unterschiede zwischen den beiden 7 Tage alten MS sind im wesentlichen durch die gleichen Erscheinungen gekennzeichnet, die bereits zum Zeitpunkt der Geburt bestanden. Die Knochenneubildungsvorgänge sind jedoch etwas lebhafter. Dem entspricht die Verbreiterung der Epiphysenplatte. Innerhalb des epiphysären Knochenkernes wird beim Kontrolltier bereits Fettmark festgestellt, das beim MTU-behandelten MS in dieser Ausdehnung fehlt. Typisches reifes Knochengewebe findet sich bei den Versuchstieren erst in der Nähe der Diaphysenmitte.

III. Meerschweinchen, 14 Tage nach der Geburt getötet.

a) **Unbehandeltes Kontrolltier (MS 355 C).** Besonders auffallend ist die sehr breite Epiphysenfuge, in der der Großblasenknorpel zu durchschnittlich 7 Zellreihen angeordnet ist gegenüber etwa 4—5 Zellreihen bei den jüngeren Tieren. Die Markspongiosa besteht fast nur noch aus reifem Knochengewebe, nur hin und wieder sind spärlichste Reste von verkalter Knorpelgrundsubstanz zu sehen. Bei der Silberfärbung zeigen die Bälkchen eine feine fibrilläre Strukturierung. Die Spongiosa wird von einem dichten Osteoblastensaum umgeben.

b) **MS 276 J: Muttertier erhielt während der Tragezeit und Säugeperiode MTU (Abb. 3).** Sehr unvollkommene, aus Osteoid bestehende epiphysäre Knochen-

lamelle. Auch die Spongiosa besteht innerhalb des Knochenkernes aus osteoidem Gewebe. Nur die lateralen Anteile des Kernes lassen spärliche Ablagerungen reifer Knochensubstanz erkennen. An der gelenkseitigen Verknöcherungszone beobachtet man plumpe osteoide Balken. Dabei hat man den Eindruck, als ob hier eine Tendenz zur Bildung einer geschlossenen Osteoidplatte besteht. Das Fettmark ist reichlich entwickelt.

Etwa 400μ breiter Epiphysenknorpel mit unregelmäßiger Ausbildung der großblasigen Knorpelzellen und unscharfer Begrenzung der Eröffnungslinie. Das gesamte Gewebe innerhalb der diaphysären Ossifikationszone färbt sich mit dem Trichromgemisch grün an und besteht somit aus Osteoid. Besonders eindrucksvoll lässt sich der Aufbau der Spongiosa verfolgen: Die Osteoblasten umgeben sich mit einem Osteoidsaum und gehen dann in der Struktur der Osteoidbalkchen auf.

Von den bisher untersuchten Tieren weist der Epiphysenknorpel hier die größte Breite auf. Das behandelte Jungtier zeigt offenbar eine schwere Ossifikationsstörung, denn es lässt sich innerhalb der Verknöcherungszone kein reifes Knochengewebe nachweisen. Statt dessen wird nur Osteoid gebildet, das selbst noch weit in der Diaphyse bestehen bleibt. Im Bereich des Epiphysenkernes beobachten wir die Tendenz zur Bildung einer gelenkseitigen Osteoidlamelle. Nach wie vor ist der aus osteoidem Gewebe aufgebaute Knochendeckel rudimentär entwickelt.

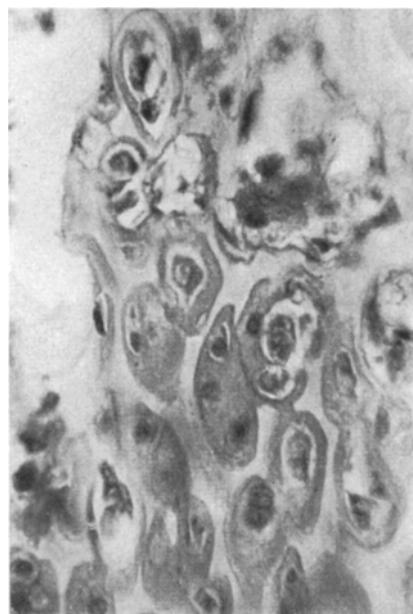


Abb. 3. MS 276 J (Goldner-Färbung). Osteospongiosa der Diaphyse mit territorialer Gliederung.

IV. Meerschweinchen, 21 Tage nach der Geburt getötet.

a) Unbehandeltes Kontrolltier (MS 355 E). Es wird weiterhin lebhaft reifes Knochengewebe innerhalb der Verknöcherungszonen abgelagert. Die einzelnen Knochensäume sind im Anfang etwa $2,6\mu$ dick. Die Breite der Epiphysenplatte beträgt etwa 300μ , die Länge des Knorpelgitters durchschnittlich 220μ . Sehr reichlich entwickelte Osteoblastensäume um die Knorpelpfeiler.

b) MS 276 F: Muttertier erhielt während der Tragezeit und Säugeperiode MTU (Abb. 4 u. 5.). Unvollkommen ausgebildete Knochenlamelle im Bereich des Epiphysenkernes. Sie besteht teils aus Osteoid, teils aus reifem Knochen. Auch die übrige Spongiosa zeigt das gleiche Verhalten. Im Bereich der gelenkseitigen Ossifikationszone wird dagegen vorwiegend reifer Knochen abgelagert.

Breite des Epiphysenknorpels 300μ . Innerhalb der diaphysären Spongiosa beobachten wir einen bemerkenswerten Umwandlungsprozeß des osteoiden Gewebes in reifen Knochen. Dabei ergeben sich hier sehr charakteristische Bilder.

Innerhalb der Knochenbälkchen geht das Osteoid unvermittelt in Knochensubstanz über.

Bei der Toluidinblaufärbung finden sich innerhalb der Osteoidspongiosa schwach metachromatische Bezirke, die bei stärkerer Vergrößerung deutlich inhomogen, teils

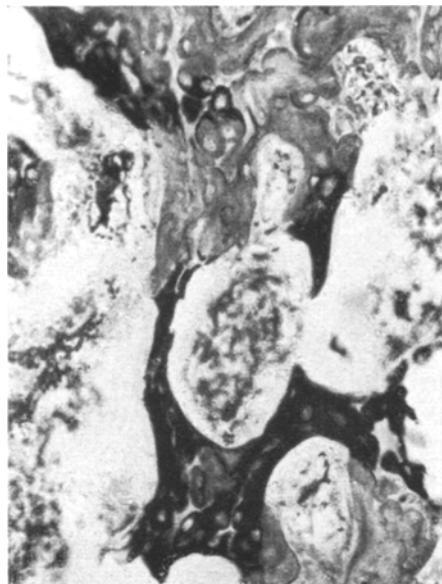


Abb. 4. MS 276 F (Silber-Färbung). Diaphysenspongiosa, bestehend aus Knochen (dunkel) und Osteoid (hell).

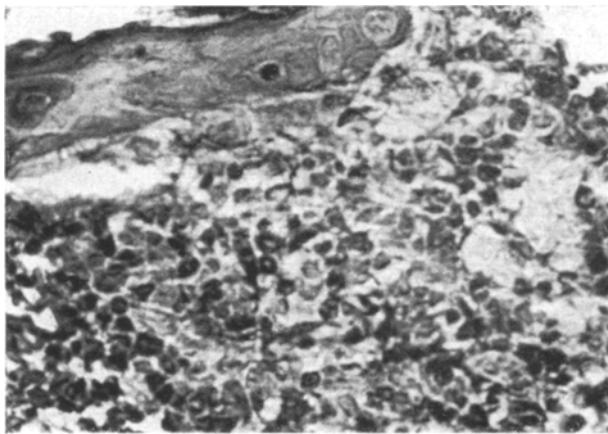


Abb. 5. MS 276 F (Goldner-Färbung). Nekrobiose der Osteoidspongiosa (im Bild hell) mit Resorptionsgranulom.

fädig krümelig, teils wolfig glasig sind. Strukturell besteht eine gewisse Ähnlichkeit mit einem lokalen Amyloid. In der Umgebung dieser Herde finden wir innerhalb des Knochenmarkes ebenfalls amorphe, metachromatisch sich anfärrende Substanzen. Darüber hinaus kommt es hier zu einer Zellulation mit Resorption dieser

Eiweißniederschläge. Im Bereich dieser Spongiosaherde ist die fibrilläre Strukturierung weitgehend aufgehoben. Es handelt sich offenbar um regressive Veränderungen der osteoiden Spongiosa, die wir mit der Alterung eines Biokolloids vergleichen.

Zusammengefaßt läßt sich feststellen, daß bei den 21 Tage alten MS die Knochenneubildung bereits etwas nachläßt. Die behandelten Jungtiere weisen zu diesem Zeitpunkt eine fortschreitende Umbildung der ausgedehnten Osteoidspongiosa in reifes Knochengewebe auf. Die Zahl der Osteoidbalkchen nimmt ab. Es fallen weiterhin herdförmig regressive Veränderungen innerhalb des osteoiden Gewebes auf. Sie färben sich metachromatisch an, die fibrilläre Strukturierung ist weitgehend aufgehoben. Um die Herde herum bilden sich Resorptionsgranulome.

V. Meerschweinchen, 28 Tage nach der Geburt getötet.

a) **Unbehandeltes Kontrolltier (MS 355 G).** Gegenüber den Kontrolltieren der vorhergehenden Gruppe ergeben sich bei der mikroskopischen Untersuchung keine wesentlichen Abweichungen.

b) **MS 270 H: Muttertier erhielt während der Tragezeit und Säugeperiode MTU.** Sehr schmale Knorpelplatte an der Grenze zwischen Dia- und Epiphyse (etwa 200 μ breit) mit nur 1—2 Zellagen des Großblasenknorpels. Es findet sich ein geschlossener, braun angefärbter Knochendeckel auf dem Fugenknorpel. Reichlich ausgebildetes Fettmark.

Die Spongiosa der Diaphyse läßt nur an einzelnen Stellen innerhalb der braunrot gefärbten Knochenbalkchen osteoides Gewebe erkennen. Gegenüber dem 21 Tage alten Versuchstier ist der Rückbildungsvorgang des osteoiden Gewebes sehr weit fortgeschritten und fast abgeschlossen.

Für diese Gruppe läßt sich feststellen, daß bei den MTU-behandelten MS der Umwandlungsprozeß des osteoiden Gewebes weiter fortschreitet. Im Bereich des Knochenkernes finden wir auf der Epiphysenfuge eine vollkommen ausgebildete reife Knochenlamelle. Die Ossifikation ähnelt weitgehend dem Vorgang bei den Kontrolltieren.

Besprechung der Knochenveränderungen.

Die feingewebliche Untersuchung der enchondralen Ossifikation ergibt beim Feten MTU-behandelter Muttertiere Störungen des Knochenwachstums, die sowohl quantitative als auch qualitative Abweichungen von dem normalen Verknöcherungsvorgang erkennen lassen.

Durch folgende Vorgänge ist die normale enchondrale Ossifikation gekennzeichnet:

Innerhalb der Knorpelwucherungszone der Epiphysenfuge ordnen sich die Knorpelzellen zu säulenförmigen Reihen an. Die diaphysenwärts vorrückenden Zellen blähen sich auf, in die Knorpelgrundsubstanz werden Kalksalze eingelagert. Von der Diaphyse her erfolgt durch vordringende Markcapillaren die Einschmelzung der quer verlaufenden Scheidewände des Großblasenknorpels, deren Zellen zugrunde gehen. Allerdings wird von manchen Untersuchern (H. MÜLLER, WEIDENREICH, MAXIMOW II. a.) angenommen, daß sie sich zum Teil am Aufbau des Knochengewebes durch Umwandlung in Osteoblasten beteiligen. Die längs verlaufenden verkalkten Wände der Knorpelkapseln bleiben als zackige Streben und Pfeiler eines

Knorpelgitters erhalten. Sie werden von myelogenen Osteoblasten umgeben, die an diese Pfeiler schmale Säume von Knochengewebe anlagern. Diese primären Knochenbälkchen wandeln sich beim weiteren Vorrücken diaphysenwärts dadurch in die sekundäre Spongiosa um, daß die Masse des Knochengewebes zunimmt, während die verkalkte Knorpelsubstanz reduziert wird.

Im Bereich der Verknöcherungszone des Gelenkknorpels fehlt die typische Anordnung der Knorpelzellen, wie wir sie von der Epiphysenfuge her kennen. Außerdem sind die stehengebliebenen Knorpelgrundsubstanzpfeiler wesentlich kräftiger, plumper und kürzer. Im allgemeinen wird ein kräftig entwickelter Saum reifer Knochensubstanz abgelagert.

Da sich die pathologischen Veränderungen nach der MTU-Behandlung zunächst quantitativ zu unterscheiden scheinen, war es zweckmäßig, objektive Maßstäbe für die Ausdehnung der Ossifikationsvorgänge festzulegen. Deshalb wurde mit Hilfe eines Ocularmikrometers die Breite der Epiphysenfuge, die Länge des verkalkten Knorpelgitters sowie die Distanz zwischen dem ersten Auftreten von Knochengewebe einerseits und der Eröffnungslinie andererseits bestimmt. Schließlich wurde die Dicke der primär angelagerten Knochensäume ausgemessen. Wir sind uns darüber im klaren, daß die einzelnen Werte keinesfalls allgemeine Gültigkeit beanspruchen können. Sie bilden jedoch für unsere Betrachtungen eine gut vergleichbare Diskussionsgrundlage. Die angegebenen Zahlen gelten für die Mitte der Epiphysenfuge im Bereich des am weitesten diaphysenwärts vorspringenden Knorpeltrichters. Für das neugeborene MS unserer Kontrollserie ermittelten wir folgende Werte:

Epiphysenfuge: $300\text{ }\mu$ breit; knochenfreie Zone: $150\text{ }\mu$ breit
Knorpelgitter: $350\text{ }\mu$ breit; Knochensaum: $1,75\text{ }\mu$ dick

Welche abweichenden Verhältnisse weisen die neugeborenen Feten MTU-behandelter Muttertiere auf? Die knorpelige Epiphysenfuge läßt im großen und ganzen keine bemerkenswerten Veränderungen erkennen. Ihre Breite entspricht etwa derjenigen der unbehandelten Kontrollen. Vielleicht ist die Anordnung der großblasigen Knorpelzellen etwas unregelmäßiger. Gleichzeitig erscheint die Eröffnungslinie nicht ganz so scharf begrenzt. Die stehengebliebenen Knorpelgrundsubstanzpfeiler sind häufig etwas plumper. Während normalerweise jeweils eine einzige Markcapillare eine Knorpelkapsel eröffnet, sehen wir hier die Gefäße gelegentlich zwei Kapselhöhlen einschmelzen. Die Breite des Knorpelgitters weicht nicht von derjenigen des Kontrolltieres ab. Auffallend ist die große Distanz bezüglich der Knochenablagerung, die zwischen der Eröffnungslinie einerseits und der ersten Knochenablagerung andererseits besteht. Die Dicke des angelagerten Knochensaumes ist im Vergleich zur Kontrolle geringer und beträgt durchschnittlich $1\text{ }\mu$.

Mit diesen Merkmalen sind bei den Versuchstieren zum Zeitpunkt der Geburt die wesentlichen Abweichungen des quantitativen Ossi-

fikationsvorganges gekennzeichnet. Aus ihnen ergibt sich, daß zwei Vorgänge gestört sind: Die Einschmelzung der Knorpelgrundsubstanz ist unvollkommen und die Ablagerung von Knochengewebe erfolgt verzögert. Beide Störungen treten sowohl im Bereich des Gelenkknorpels als auch der Epiphysenfuge in wechselnder Ausprägung in Erscheinung.

Wie stellen sich nun die weiteren Knochenneubildungsvorgänge während der postnatalen Säugeperiode dar? Bei den Kontrolltieren ist etwa bis zum 14. Lebenstag das Knochenwachstum besonders lebhaft und läßt in seiner Intensität nach diesem Zeitpunkt bereits wieder nach. Dabei werden gleichzeitig die Knochensäume innerhalb der Ossifikationszone dicker, die Spongiosabälkchen innerhalb der Diaphyse sowie im Knochenkern werden kräftiger. Im Mark tritt Fettgewebe auf. Vom 14. Lebenstag an findet sich auf der gelenknahen Seite der Epiphysenfuge eine durchgehende Knochenlamelle.

Die meßbaren Größen des Verknöcherungsvorganges während der Säugeperiode sind in der nebenstehenden Tabelle zusammengestellt (Tabelle 2). Die Zone, innerhalb der bei der enchondralen Ossifikation kein Knochengewebe abgelagert wird, ist bei allen Kontrollen während der Beobachtungszeit recht konstant. Dagegen finden wir bei den Versuchstieren deutliche Unterschiede. Bei 14 Tage alten MS erreicht diese Zone ihre größte Ausdehnung. Dabei konnten wir ein Tier untersuchen, bei dem etwa bis zur Mitte der Diaphyse hin kein reifes Knochengewebe abgelagert worden war. Gegen Ende der Versuchsperiode nimmt die Ausdehnung dieses Bezirkes wieder ab, ist jedoch auch noch am Ende der Versuchszeit deutlich größer als bei den Kontrollen. Schließlich

Tabelle 2. Maße innerhalb der Ossifikationszone.

	0 Tage	7 Tage	14 Tage	21 Tage	28 Tage
	Kontroll-MTU				
Breite der Epiphysenfuge (μ)	300 300	400 300	600 400	300 300	300 200
Länge des Knorpelgrund- substanzgitters (μ) . . .	350 350	275 400	270 400	220 300	240 270
Ausdehnung der knochen- freien Zone (μ)	150 650	125 325	150 —	150 275	140 250
Dicke des primären Kno- chensaumes (μ)	1,75 1,5	2,2 1,7	2,6 1,7	2,6 1,7	2,6 1,7

Innerhalb eines jeden Kästchens gibt die linke obere Zahl das Maß für die Kontrolle an, dagegen rechts unten für die MTU-Jungtiere.

bleibt das Ausmaß der neu gebildeten Knochensubstanz hinter dem der unbehandelten Tiere zurück.

Über die Beeinflussung des intrauterinen Knochenwachstums durch die Zufuhr von MTU bei trächtigen Laboratoriumstieren berichten unseres Wissens bisher nur WEISS und NOBACK. Sie beobachteten bei Rattenfeten eine verzögerte Anlage der Knochenkerne im Verlauf der Tragezeit. Nach diesen Untersuchungen treten am 46. Tag der Schwangerschaft bei unbehandelten Tieren folgende Knochenkerne auf: Mandibula, Maxilla, Os praemaxillare, Os frontale, Humerus, Ulna, Radius, Rippen. Demgegenüber wurden nach MTU-Behandlung an dem gleichen Tage nur folgende Knochenkerne festgestellt: Mandibula, Clavicula, Humerus, Rippen. Gleichzeitig berichten sie, daß die zu diesem Zeitpunkt gebildeten Kerne kleiner sind als bei den Kontrollen. Die Befunde entsprechen dem verzögerten Auftreten der Knochenkerne bei A- bzw. Hypothyreosen, wie es von der humanen und experimentellen Pathologie her bekannt ist. Mit Recht schließen WEISS und NOBACK aus ihren Untersuchungen, daß das mütterliche Thyroxin für die Knochendifferenzierung des Feten von Bedeutung ist.

Während bisher die quantitativen Störungen der Verknöcherung berücksichtigt wurden, lassen sich als Folge der MTU-Behandlung auch qualitative Unterschiede der enchondralen Ossifikation gegenüber Normaltieren nachweisen. Sie sind im allgemeinen bei den üblichen Routinefärbungen mit Hämalaun-Eosin schwerer zu erkennen. Ihre Feststellung gelingt wesentlich leichter mit dem GOLDNERSchen Drei-farbengemisch, in dem sich das reife Knochengewebe braun-rot, osteoides Gewebe dagegen grün tingiert. In mancher Hinsicht bildet dann die Färbung mit basischen Teerfarbstoffen eine wertvolle Ergänzung. Aus den färberischen Unterschieden des neu gebildeten Knochens innerhalb der Ossifikationszone ergibt sich bei den behandelten Tieren die Ablagerung von Osteoid, das erst später in reifen Knochen überführt wird. Bis zu einem Alter von 14 Lebenstagen nimmt bei unseren Versuchstieren die Menge des unreifen Knochengewebes zu, um bei älteren Tieren dann wieder abzunehmen. Bei 4 Wochen alten MS fanden wir nur sehr spärliche Osteoidbalkchen. Zu einem späteren Zeitpunkt werden keinerlei Abweichungen mehr von den Kontrollen festgestellt. Auf Grund der zeitlichen Beziehungen müssen wir die nachlassende Osteoidbildung auf die Entwöhnung der Jungtiere zurückführen.

Die Untersuchungsbefunde deuten darauf hin, daß MTU zu einer Störung der knochenbildenden Funktion der Osteoblasten führt, die nach Aufhören der Medikamentzufuhr wieder rückbildungsfähig ist. Wir müssen annehmen, daß die Ossifikation auf der Stufe der Osteoidbildung stehen bleibt. Bei unseren Versuchen fanden wir nun eine schwache Metachromasie des osteoiden Gewebes. Es erscheint in diesem Zusammenhang wichtig, darauf hinzuweisen, daß bereits im Bereich der normalen Verknöcherungszone kleine basophile, sich metachromatisch anfärbbare Inseln nachweisbar sind, die vermutlich ein Durchgangsstadium der Knochenbildung darstellen. Nach GODDARD handelt

es sich dabei um Mucopolysaccharide enthaltende Herde, die sich durch Perjodsäure oxydieren lassen. Sie sollen nach seinen Angaben einen entscheidenden Faktor für das Knochenwachstum bilden. Nach PRITCHARD kommt den Präosteoblasten bzw. Osteoblasten eine dreifache Funktion im Rahmen der Ossifikation zu: Sie sezernieren saure Mucopolysaccharide, alkalische Phosphatasen und kollagenbildende Stoffe in die Grundsubstanz des Knochengewebes. Nach diesen Vorstellungen muß mit einer vermehrten Produktion an sauren Mucopolysacchariden während der MTU-Zufuhr gerechnet werden.

Inwieweit sich unter dem Einfluß des Pharmakons noch andere Partialfunktionen der Osteoblasten ändern, kann nicht eindeutig beantwortet werden. Aus äußeren Gründen mußte auf den Nachweis des Fehlens oder Vorhandenseins der alkalischen Phosphatase im Bereich der Ossifikationszone verzichtet werden. Es ist bekannt, daß dieses Ferment bei lebhafter Knochenneubildung (unter anderem auch während der Regeneration von Frakturen) vermehrt im Gewebe vorkommt. Ihre Aufgabe besteht in einer Mineralisation des Osteoids. Gehen wir davon aus, daß die Knochen unserer Versuchstiere häufig mit dem Messer leicht schneidbar waren, so dürfen wir mit einem verminderten Kalkgehalt des Gewebes und zugleich mit einer Verminderung der alkalischen Phosphatasen während der Versuchsdauer rechnen.

Über das Verhalten der kollagenbildenden Funktion der Osteoblasten können wir wieder genauere Beobachtungen mitteilen. Untersucht man Knochenpräparate mit Hilfe von Silbermethoden, dann färben sich die Spongiosabälkchen meistens grauschwarz an. Um die Knochenzellen herum erkennt man weiterhin konzentrisch angeordnete argyrophile Fibrillen. Der etwas ältere Knochen färbt sich meistens tiefschwarz an, ohne daß im einzelnen eine fibrilläre Strukturierung (bei der Silbermethode) nachweisbar ist. Bei den MTU-behandelten MS fehlt zum größten Teil die fibrilläre Anordnung im Bereich des Osteoids. Gleichzeitig ist die Grundsubstanz des osteoiden Gewebes auch heller gefärbt. Die Befunde sind wohl dahingehend zu deuten, daß die kollagenbildende Partialfunktion der Osteoblasten unter der Behandlung eine Abänderung erfährt.

Neben diesen Abweichungen vom normalen Verknöcherungsvorgang ist auch das morphologische Bildungsprinzip der Spongiosa gestört. Untersuchen wir die einzelnen Bälkchen, dann bestehen sie bei den Versuchstieren aus einzelnen osteoiden Territorien, die nur gelegentlich miteinander konfluieren. Betrachten wir den Vorgang der Spongiosabildung als einen von den Osteoblasten ausgelösten Gerinnungsvorgang einer eiweißhaltigen Grundsubstanz, der mit einer gleichzeitigen Verkittung der Einzelterritorien einhergeht und damit zu einem organisch verbundenen Gebilde führt, dann ist eine Störung dieses Geschehens

anzunehmen. Der Wirkungsbereich der Osteoblasten ist offenbar stark eingeschränkt und scheint sich nur auf die unmittelbare Nachbarschaft der Zellen zu erstrecken, so daß die einzelnen Elemente von einem osteoiden Hof umgeben sind. Dabei liegt innerhalb der Bälkchen ein Baustein neben dem anderen. Ein durchgehend strukturiertes Bälkchen entsteht nicht, wie es von den Kontrolltieren her bekannt ist.

Wir haben uns noch kurz mit dem Schicksal des Osteoids zu beschäftigen. Aus der Beschreibung der histologischen Befunde erhellt, daß im Verlauf der Ossifikation osteoides Gewebe in reifen Knochen übergeführt wird. Dieser Umwandlungsprozeß ist um so ausgeprägter, je weiter die Bälkchen diaphysenwärts vorrücken. Er vollzieht sich weiterhin mit besonderer Deutlichkeit nach dem Aufhören der MTU-Zufuhr, geht also bei unserer Versuchsanordnung der Entwöhnung der Jungtiere parallel. Bei 4 Wochen alten MS ist fast die gesamte Osteoidspangiosa verknöchert. Von diesem regelrechten Geschehen gibt es jedoch Abweichungen, die wir bei 14 und 21 Tage alten MS fanden. An zahlreichen Stellen des osteoiden Gewebes beobachten wir bröcklige, inhomogene Herde, die sich schwach metachromatisch anfärben. Gleichzeitig lassen auch die Knochenzellen wesentliche Veränderungen erkennen. Einzelne sind geschwollen, andere dagegen pyknotisch. Gelegentlich fehlen sie vollkommen. Diese regressiven Veränderungen entsprechen weitgehend den Befunden, die v. RECKLINGHAUSEN als Thrypsis bzw. Onkose des Osteoids gedeutet hat und vornehmlich bei der Rachitis und Osteomalacie fand. In dem eigenen Material entstehen um diese Herde herum myelogene Resorptionsgranulome, in denen eine Durchflutung mit Eiweißstoffen nachweisbar ist. Wir möchten diese katabiotischen Prozesse des osteoiden Gewebes mit der Alterung von Kolloiden vergleichen. Nach dieser Auffassung würde es sich um einen Vorgang handeln, der bei einem bestimmten Alter des osteoiden Gewebes mit großer Regelmäßigkeit eintritt. Daneben muß auch an die Möglichkeit gedacht werden, daß eine übermäßige funktionelle Belastung des Knochengewebes zu diesen degenerativen Veränderungen führt.

Da unter der Behandlung mit MTU das Skelettwachstum mit einer erheblichen Neubildung von osteoidem Gewebe einhergeht, könnte bei unseren Versuchstieren an eine Rachitis gedacht werden. Gerade für die D-Avitaminose ist die Produktion des unreifen Knochengewebes besonders charakteristisch. Dem ist zunächst entgegenzuhalten, daß bei den Kontrolltieren, die unter den gleichen äußeren Bedingungen lebten, keinerlei Anzeichen einer Rachitis histologisch festgestellt wurden. Die weitere Differenzierung der Knochenveränderungen ergibt genügend Anhaltspunkte dafür, daß die typischen Kriterien dieser Erkrankung in unseren Fällen nicht vorliegen. Es fehlt eine stärkere

Verbreiterung der Knorpelwucherungszone sowie deren Vascularisation, die bei einer Rachitis kaum vermißt werden. Aus diesem Grunde sind die beschriebenen Knochenveränderungen von einer Rachitis abzugrenzen. Wir müssen sie als Folge der MTU-Behandlung beim Muttertier ansehen.

Dabei erhebt sich die wichtige Frage, ob die pathologische Ossifikation als Auswirkung der bestehenden funktionellen Thyreostase zu deuten oder aber eine direkte Beeinflusung der Osteoblastentätigkeit durch das zugeführte Medikament anzunehmen ist. Erst nach Kenntnis der histologischen Veränderungen des Skeletwachstums bei anderen thyreogenen Ursachen kann dazu Stellung genommen werden.

Das histologische Bild der Wachstumsstörungen (Hypo- und Athyreose, Thyreoidektomie) besteht nach DIETERLE in einer gleichmäßigen Verzögerung des enchondralen und periostalen Knochenwachstums. Die Knorpelscheibe der Epiphysenfuge wird nur in sehr geringem Maße in Knochengewebe übergeführt. Nach LANGHANS, WEGELIN, DIETERLE, HAGENBACH und STOCCADA sind vornehmlich die primären Markräume befallen. Sie sind kurz und an Zahl spärlich, gegen die Epiphysenfuge oft durch eine Knochenlamelle abgetrennt. Die Verkalkung der Knorpelgrundsubstanz ist nicht gestört, dagegen findet sich eine mangelhafte Resorption der Knorpelgrundsubstanz. Regelmäßig wird ein verspätetes Auftreten der Knochenkerne beobachtet.

HOFMEISTER findet verdickte Epiphysenscheiben und eine herabgesetzte Knorpelzellwucherung mit Quellung und Zerklüftung der Grundsubstanz, so daß vor allem die Knochenveränderungen von ihm auf eine Störung der Knorpelzellen zurückgeführt werden.

Im Tierexperiment (HOFMEISTER, v. EISELSBERG, WEISSCHEDEL u.a.) führt die Thyreoidektomie zu einer Verschmälerung der Epiphysenfuge; die Knorpelzellen sind an Zahl verringert, ihre Anordnung ist jedoch regelmäßig. Typische Bläschenzellen fehlen innerhalb der Wucherungszone. An der diaphysären Seite des Fugenknorpels bildet sich eine zu ihm parallel verlaufende Knochenlamelle. Damit hört jede Knochenneubildung auf. Die Spongiosa ist vermindert. Blutbildendes Mark, von reichlich Fettgewebe durchsetzt, reicht bis zur Epiphysenplatte. Nach WEISSCHEDEL ist das Skeletwachstum etwa 4 Wochen nach der Thyreoidektomie bei jungen Ratten erloschen, Zugeführtes Thyroxin hebt die beschriebenen Veränderungen auf. Der epiphysennahe Knochendeckel bildet sich zurück, die Knorpelplatte zeigt jetzt eine lebhafte Proliferation.

Der Vergleich der Knochenveränderungen mit den eigenen Untersuchungsbefunden ergibt neben ähnlichen Reaktionen doch deutliche Unterschiede. Gegenüber Kontrolltieren ist das Knochenwachstum nach MTU-Zufuhr verlangsamt, hört jedoch keineswegs auf, wie z. B. nach der Thyreoidektomie. Eine quer verlaufende Knochenlamelle im Bereich der Ossifikationszone fehlt bei unseren MS. Auffallend ist die ausgedehnte Osteoidbildung, die in dem Maße bei anderen thyreogenen Wachstumsstörungen nicht gefunden wird. Sicherlich wird ein Teil der geschilderten Veränderungen (vorwiegend die quantitativen) auf den Mangel an Schilddrüsenwirkstoff bezogen werden müssen. Daneben halten wir aber auch eine unmittelbare Beeinflussung des Ossifikations-

vorganges durch das MTU für sehr wahrscheinlich. Das gilt insbesondere für die qualitativen Veränderungen.

Thioharnstoffderivate gehören offenbar einer Stoffklasse an, die besonders leicht Fermentsysteme in ihrem Wirkungsvermögen beeinflußt. So liegen z. B. von LYNN und THOMAS Untersuchungen über die Abänderungen des Pigmentstoffwechsels durch diese Substanzen vor. LYNN berichtet über einen starken Pigmentverlust des Auges und der Haut bei Eleutherodactylus Larven nach der Einwirkung einer 0,005%igen Lösung von Phenyl-Thiouracil. Er vermutet eine Beeinflussung der Tyrosinase mit nachfolgender Hemmung der Melaninbildung. THOMAS prüfte den Effekt der Depigmentierung mit verschiedenen Substanzen. In der Reihenfolge der aufgezählten Stoffe wurde der Pigmentverlust immer schwächer: Phenyl-Thiouracil, Allyl-Thiouracil, Aminobenzoësäure, Sulfanilamid. Die enge Verwandtschaft zu den Sulfonamiden ist bemerkenswert. Sie weisen außerdem nach HUF und AUFFARTH eine sichere antithyreoidale Wirkung auf. Schließlich vermuten HOLLE und BURKHARDT eine Fermenthemmung an der Leberzelle des MS nach Einwirkung von Conteben, wie sie von uns nach hoher MTU-Dosierung an der MS-Leber ebenfalls beobachtet wurde.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Mitteilung wird an Hand eines größeren Tierrmaterials der Einfluß des Methyl-Thiouracils auf den Verlauf der Trächtigkeit und die Entwicklung der Feten beim Meerschweinchen untersucht.

1. In einem hohen Prozentsatz wird eine Störung im Verlauf der Schwangerschaft im Sinne einer vorzeitigen Beendigung der Tragezeit beobachtet. Im Hinblick auf die enge funktionell-korrelativen Beziehungen zwischen Schilddrüse einerseits und dem Ovar andererseits dürfte eine unter der Behandlung auftretende Dyshormonose für die vorzeitige Beendigung der Trächtigkeit verantwortlich zu machen sein.

2. An den Feten behandelter Muttertiere werden Zeichen einer Entwicklungsstörung nachgewiesen. Die Geburtsgewichte sind durchschnittlich um 15 g geringer als bei den unbehandelten Kontrolltieren. Ein Teil der Jungtiere ist bei der Geburt tot. Während der Säugeperiode erfolgt gegenüber unbehandelten MS ein geringeres Körperwachstum. Histologisch finden sich zur Zeit der Geburt gelegentlich persistierende Blutbildungsherde in der Leber, die Einwanderung der Phänochromocyten in das Nebennierenmark hält lange an.

3. Nach der Behandlung der Muttertiere mit MTU während der Tragezeit und in der Säugeperiode treten quantitative und qualitative Abweichungen des Ossifikationsvorganges bei den Jungtieren auf. Die quantitativen Veränderungen bestehen in einer Verzögerung der Knochenablagerung sowie in einer unvollkommenen Einschmelzung

der Knorpelgrundsubstanz. Qualitativ entsteht reichlich osteoides Gewebe, das später in reifen Knochen übergeführt wird. Hin und wieder beobachteten wir eine Nekrobiose des Osteoids mit myelogenen Resorptionsgranulomen in ihrer Umgebung. Die Veränderungen werden auf die bestehende funktionelle Thyreostase sowie auf eine unmittelbare Beeinflussung der Osteoblasten durch das Medikament bezogen.

Literatur.

- ALBRIEUX, A. S., J. C. ESTEFAN and M. G. MARRERO: Chem. Abstr. **1947**, 2491. — BARTELHEIMER, H., u. K. KLOOS: Z. exper. Med. **119**, 246 (1952). — BAUMANN, E.: Zbl. Chir. **58**, 655 (1931). — BECKS, H., M. E. SIMPSON, R. O. SCOW, C. W. ASLING and H. M. EVANS: Anat. Rec. **100**, 501 (1948). — BICKENBACH, W., M. HESS u. A. LOESER: Arch. Gynäk. **176**, 301 (1948). — D'ANGELO, S. A., A. S. GORDON and H. A. CHARIPPER: Anat. Rec. **99**, 663 (1947). — DAVIS, L. J., and W. FORBES: Lancet **149**, 740 (1945). — DIETERLE, TH.: Virchows Arch. **184**, 56 (1904). — DÖDERLEIN, G.: Beitr. path. Anat. **88**, 92 (1930). — EISELSBERG, A. v.: Arch. klin. Chir. **49**, 207 (1895). — EITEL H.: Klin. Wschr. **1936**, 1217. — EITEL, H., u. E. LEXER: Arch. klin. Chir. **185**, 4 (1930). — FREIESLEBEN, E., u. K. KJERULF-JENSEN: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 513. — GODDAED, H.: Arch. d'Anat. microsc. **40**, 223 (1951). — GOLDNER, J.: C. r. Soc. Biol. Paris **92**, 725 (1925). — GUMPRECHT, P., u. A. LOESER: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **189**, 345 (1938). — HAGEMANN, U.: Habil.-Schr. Greifswald 1954. — HAGEN, J., u. A. SCHÜRMAYER: Med. Klin. **1947**, 847. — HAGENBACH, E.: Mitt. Grenzgeb. Med. u. Chir. **18** (1907). — HANKE, H.: Dtsch Z. Chir. **247**, 317 (1936). — Innere Sekretion und Chirurgie. Berlin 1937. — HOET, J. P., et J. A. LEDERER: Annal. d'Endocrin. **7**, 4 (1946). — HOFMEISTER, F.: Beitr. klin. Chir. **11**, 441 (1894). — HOLLE, G., u. R. BURKHARDT: Virchows Arch. **325**, 26 (1954). — HUF, E., u. F. AUFFARTH: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 394 (1949). — HUGHES, A. M.: Endocrinology **34**, 69 (1944). — KATSCH, G.: Med. Klin. **1949**, 1589. — KLOOS, K.: Virchows Arch. **321**, 177 (1952). — Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1953**. — KOFF, R., A. LOESER u. G. MEYER: Klin. Wschr. **1948**, 202. — KOSDOBA, A. S., u. J. A. SCHTSCHERBINA: Mitt. Grenzgeb. Med. u. Chir. **44**, 79 (1935). — LANGHANS, TH.: Virchows Arch. **149**, 155 (1897). — LYNN, W. G.: Anat. Rec. **99**, 662 (1947). — MAXIMOW, A.: Beitr. path. Anat. **41**, 122 (1907). — MIKEVICS, M. S.: Dokl. Akad. Nauk. SSSR. **69**, 277 (1947). — MÜLLER, H.: Z. Zool. **9**, 147 (1858). — NAKAMURA, T.: Trans. Soc. Path. Jap. **23** (1933). — PREISSÄCKER, E.: In R. JAFFE, Anatomie und Pathologie der kleinen Laboratoriumstiere. Berlin 1931. — PRITCHARD, J. J.: J. of Anat. **86**, 259 (1952). — RAY, R. D., M. E. SIMPSON, CH. H. LI, C. W. ASLING and H. M. EVANS: Amer. J. Anat. **86**, 479 (1950). — SCHIFF, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **18**, 25 (1884). — SIMPSON, M. E., C. W. ASLING and H. M. EVANS: Yale J. Biol. a. Med. **23**, 1 (1950). — STEINLEIN, M.: Arch. klin. Chir. **60**, 247 (1900). — STOCCADA, F.: Beitr. path. Anat. **61**, 450 (1916). — THOMAS, A.: Anat. Rec. **1947**, 663. — WAGNER-JAUREGG, TH.: Med. Klin. **1946**, 433. — WATSON, E.M.: Edinburgh Med. J. **4**, 11. — WEBSTER, R. C., and W. C. YOUNG: Anat. Rec. **100**, 722 (1948). — WEGELIN, C.: In HENKE-LUBARSCH, Bd. 8. Berlin 1926. — WEIDENREICH, F.: In v. MÖLLENDOFFS Handbuch der normalen mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. II/2. Berlin 1930. — WEISS, R. M., u. CH. R. NOBACK: Endocrinology **45**, 389 (1950/51). — WEISSCHEDEL, E.: Dtsch. Z. Chir. **262**, 117 (1949). — WILLENER, H.: Diss. Bern 1948.

Oberarzt Dr. med. U. HAGEMANN, Greifswald,
Pathologisches Institut der Universität.