

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H. BARTELHEIMER)

Strukturänderungen des Knochens als Folge chronischer Mangeldurchblutung

Von

KLAUS LORENTZ

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. April 1960)

Obwohl Zirkulationsstörungen des Knochens große praktische Bedeutung besitzen, so bei den aseptischen Nekrosen, findet man verhältnismäßig wenig histopathologische Untersuchungen über die auf diese Weise bewirkten Veränderungen, wie schon von BROOKES sowie KELLY u. Mitarb. betont wurde.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen ist es, einen Beitrag zur Histo-morphologie und — unter gewissen Vorbehalten — zur Histochemie des Knochens unter dem Einfluß von Durchblutungsstörungen zu liefern.

Material und Methoden

An 12 amputierten Extremitäten wurden mit der Punktionskanüle nach BARTELHEIMER Knochenzylinder entnommen. Sie stammten von 40—70jährigen Patienten, bei denen als Grundleiden eine diabetische Angiopathie, eine Endangitis obliterans, eine Arteriosklerose oder ein embolischer Gefäßverschluß vorlagen, die mindestens seit 10—12 Monaten starke Zeichen einer Mangeldurchblutung erzeugt hatten.

Die Punktion erfolgte einmal proximal an der Amputationsstelle (Femur oder Tibia), wo in allen Fällen bis auf einen (Abb. 4 und 5) eine gute Durchblutung nachweisbar war. Die distale Entnahme geschah am Calcaneus in der Nähe der Nekrose, aber noch außerhalb der eventuell begleitenden Entzündungszone. Durch die Doppelpunktion an derselben Extremität, die zwischen beiden Orten der Untersuchung eine pathologisch-anatomisch nachweisbare Obliteration der Gefäße zeigte, ist gleichzeitig ein Fehler durch die Wirkung eines allgemeinen, den Knochen treffenden, Stoffwechselprozesses auszuschließen. Es wurden nur Unterschiede in der histologischen Struktur zwischen beiden vom selben Individuum stammenden Präparaten ausgewertet. Zur vergleichenden Beurteilung des distal gewonnenen Gewebes wurde aus dem Calcaneus eines gesunden Mannes (Unfallamputation) ein Zylinder punktiert, der dem gleichen Verfahren wie die übrigen Präparate unterworfen wurde, um auch topisch bedingte Unterschiede der Strukturänderung zu eliminieren.

Das Material wurde sofort bei der Amputation entnommen und gemäß den Angaben von DETTMER, SCHMITT-ROHDE und HABERICH nach ROMEIS verarbeitet.

Von den zahlreichen angewandten Färbungen wiesen lediglich die mit Toluidinblau und Carbolthionin deutliche Abweichungen der Struktur zwischen dem gut und dem schlecht durchbluteten Knochen auf. Weniger lassen sich diese mit der Perjodsäure-Schiff (PAS)-Färbung nachweisen, in noch geringerem Maße mit Hämatoxylin-Eosin. Die Versilberung nach GÖMÖRI sowie die Azanfärbung mit und ohne vorherige Acetylierung ließen keine verwertbaren Unterschiede erkennen.

Gemäß dem Aufbau des Knochengewebes wurden die Veränderungen in 3 Strukturdimensionen registriert:

1. Compacta und Spongiosa,
2. Tangentiallamellen und Osteone,
3. Osteocyten, Knochenkanälchen, Kittlinien, Fasern und Grundsubstanz.

Was die Verteilung von Compacta und Spongiosa angeht, so lassen sich zwischen proximal und distal punktiertem Knochen keine wesentlichen Unterschiede gegenüber der Norm nachweisen. Im Vergleich mit dem Calcaneuspunktat des gesunden Knochens fiel lediglich eine gewisse Corticalisatrophie auf, die jedoch allein schon auf die Inaktivität zurückgeführt werden könnte. Eine deutliche Rarefizierung der Bälkchenstruktur im distalen Punktat war nicht festzustellen.

Der Vergleich der Punktate in der zweiten Größenordnung ergab folgende Unterschiede: Der proximal entnommene gut durchblutete Knochen zeigte ein

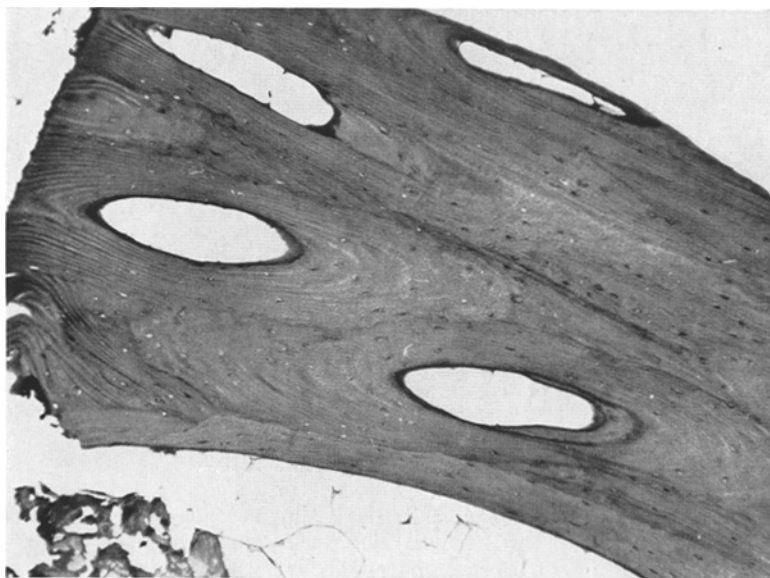


Abb. 1. 59jähriger Mann, Endangitis obliterans mit Mumifizierung des linken Fußes. Kollateralkreislauf bis zur Femurmitte vorhanden. Punktat aus dem oberen Femurdrittel. Toluidinblau nach LISON, Vergr. 1:88,2

ruhiges Lamellenbild mit ausgereiften Osteonen und Schaltlamellen (Abb. 1), während der schlecht mit Blut versorgte ein unruhiges Bild, ähnlich einem Schotterknochen, aufwies. Die Zahl der Osteone und Schaltlamellen pro Flächeneinheit war deutlich größer im Vergleich zu dem proximal entnommenen Gewebe. Das gilt besonders für die Compacta, die übrigens infolge ihrer unterschiedlichen Dicke nicht so gute Vergleichsmöglichkeiten bietet, aber auch für die Spongiosa, wenn man auf die gleiche Bälkchengröße bezieht.

Während mit der Hämatoxylin-Eosin-Färbung nur die lamelläre Struktur sichtbar wurde, zeigte die PAS-Färbung in gewissem Maße helle und dunkle Lamellensysteme. Weitaus übertroffen werden diese Resultate noch durch die Färbung mit Toluidinblau oder Carbolthionin-Pikrinsäure. Auch hier sind die Osteone und Generallamellen heller gefärbt als die Schaltlamellen. Bei der ersteren hellblau, bei der zweiten gelb, in den Schwarz-weiß-Photogrammen in beiden hell.

Der schlechter durchblutete Knochen weist bei diesen Färbungen ein ausgesprochen buntes, scheckiges Bild auf. Nicht allein die Zahl der Systeme ist

vermehrt, ihre Farbsättigung differiert auch stärker als beim gut durchbluteten Gewebe. Helle Lamellen sind distal häufiger anzutreffen als im Femur oder in der

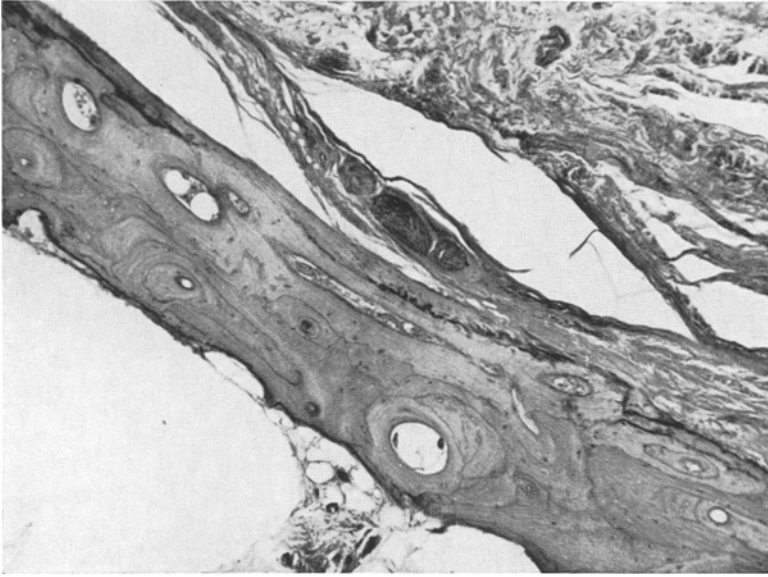


Abb. 2. Derselbe Patient. Punktat aus dem Calcaneus. Man beachte die obliterierten Gefäße in der Bildmitte. Toluidinblau nach LISON, Vergr. 1:88,2

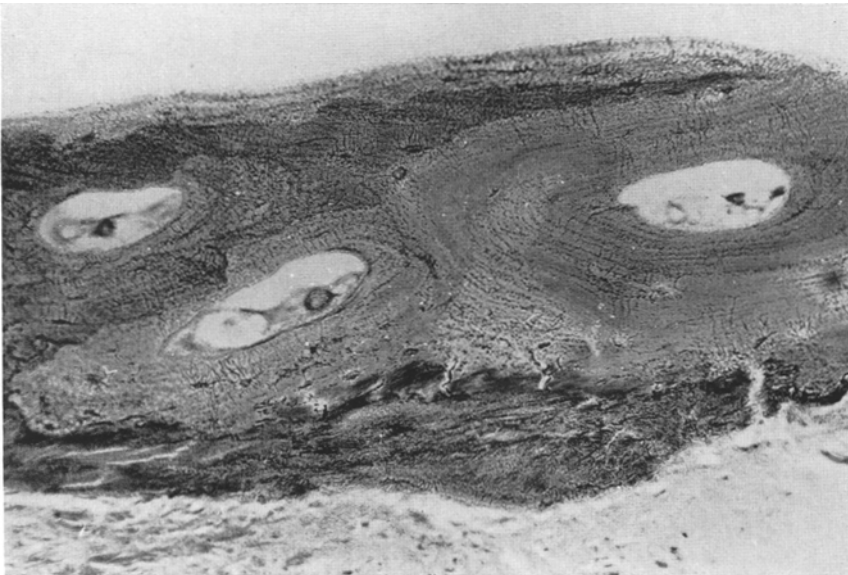


Abb. 3. 63jähriger Mann, Gangrän des linken Fußes bei stenosierender Arteriosklerose. Punktat aus dem Calcaneus. Carbolthionin nach NICOLLE, Vergr. 1:224

Tibia. Auch im proximalen Punktat kann in der Spongiosa eine Vermehrung der Lamellensysteme pro Flächeneinheit auftreten. Diese sind jedoch in der Farbe gleich und meist dunkel dargestellt.

Bei ganz hochgradiger Durchblutungsstörung ist das Bild eines „Schotterknochens“ ganz ausgeprägt. Dieser zeigt abnorm kleine, irregulär begrenzte

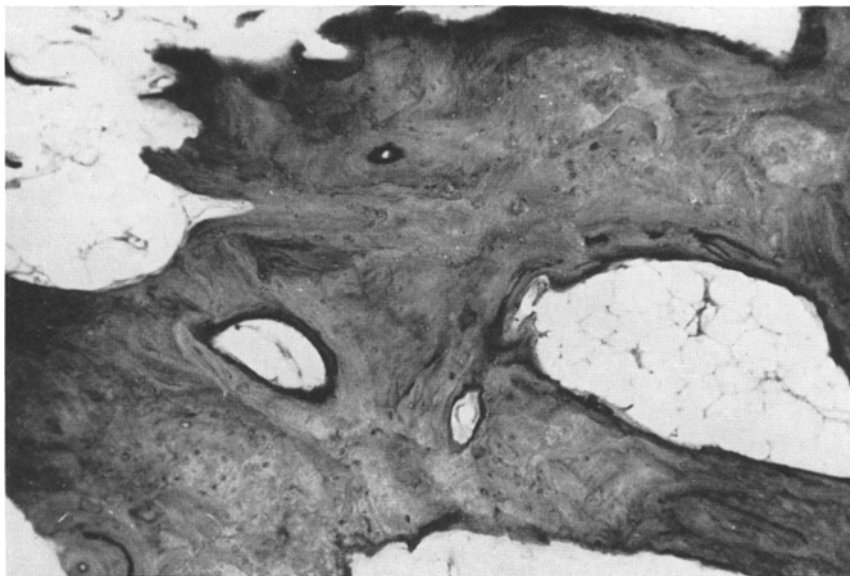


Abb. 4. 61jähriger Mann, Diabetes mellitus mit Gefäßverschluß bis zur Fossa poplitea. Punktat aus der Tibia. Hochgradige Durchblutungsstörung, Schotterknochen. Toluidinblau nach LISON, Vergr. 1:88,2

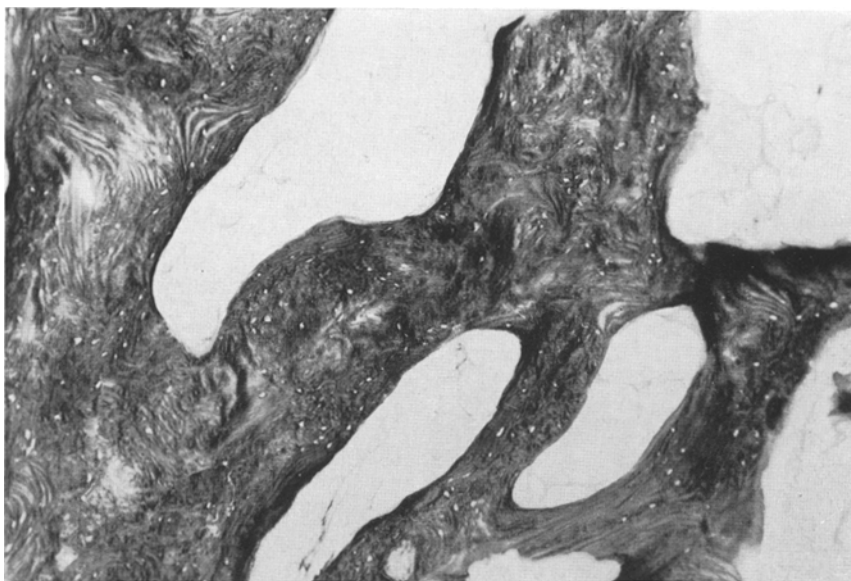


Abb. 5. Derselbe Patient. Punktat aus der Tibia. Hochgradige Durchblutungsstörung, Schotterknochen. Rechts unten noch lamelläre Zeichnung. Versilberung nach GÖMÖRI, Vergr. 1:88,2

Lamellensysteme, deren Anzahl pro Gesichtsfeld stark vermehrt ist. Bei der Toluidinblaufärbung erscheint der Knochen schmierig dunkel (Abb. 4).

Es handelte sich dabei um einen 61jährigen Patienten mit Diabetes mellitus (s. Bildtext) bei dem trotz vorliegender Hautnekrosen am distalen Unterschenkel eine Amputation in Tibiamitte versucht wurde. Da die Wunde nicht heilte, mußte 3 Wochen später im oberen Femurdrittel abgesetzt werden. Danach komplikationsloser Verlauf.

In der dritten Größenordnung ließen sich nach den Durchblutungsänderungen keine Unterschiede feststellen. Die Thioninfärbung, die einen guten Zellaachweis erlaubt, zeigte in Zahl und Verteilung der vitalen Osteocyten zwischen proximalem und distalem Punkt keine Differenz. Das gleiche gilt für Fasern und Kittlinien.

Nur bei sehr hochgradiger Zirkulationsstörung war mit Hilfe der Azanfärbung eine leichte Zunahme der osteoiden Säume festzustellen. Der bei der Toluidinblaufärbung sehr dunkle Knochen zeigt mit anderen Methoden, wie der Versilberung, einen Schwund der schichtweise gelagerten Fasern, daneben das Auftreten einzelner irregulärer Fasern (Abb. 5).

Die Thioninfärbung läßt außer starken Differenzen in der Anfärbung der sehr kleinen, irregulär begrenzten Systeme viele dichtliegende Knochenkanälchen erkennen.

Differenzen in der Färbbarkeit der Knochengrundsubstanz bei gut und schlecht ernährtem Knochen waren nicht erkennbar. Eine Metachromasie ließ sich ebensowenig feststellen. Änderungen der Versilberungstendenz der Fibrillen wurden nicht beobachtet.

Diskussion

Die angeführten Beobachtungen zeigen, daß mit den beschriebenen Färbungen nur Veränderungen der Histomorphologie zu erkennen sind.

Die von MÜLLER beschriebene Nekrose der Osteocyten in den Zwischenlamellen war sowohl im gut durchbluteten wie im schlecht ernährten Knochen zu finden. Sie ist daher, wie schon JAFFE und POMERANZ betont haben, nicht als Kriterium einer Durchblutungsstörung zu verwerten. Vielmehr entspricht sie der normalen Tendenz der Interstitiallamellen, mit steigendem Alter abzusterben, vielleicht, weil sie weiter als die Osteone vom Blutstrom gelegen sind. So sprachen SHERMAN und SELAKOVICH von fokalen Nekrosen als Ausdruck der Skeletalterung, die vom 3. Lebensjahrzehnt physiologischerweise immer anzutreffen sind. In Übereinstimmung mit BURCKHARDT ist hinzuzufügen, daß diese Nekrose nicht an den Grenzen der Interstitiallamellen halt macht, sondern auch gefäßferne Bezirke der Ringlamellen (Osteone) ergreift. Alle diese Veränderungen sind aber nicht regelmäßig anzutreffen. Das Auftreten leerer Knochenhöhlen beweist übrigens nicht das Fehlen von Osteocyten *in vivo*, da diese bei der Präparation aus angeschnittenen Knochenhöhlen herausgelöst werden können. Echte Nekrose und Artefakt sind in diesem Fall nicht zu trennen.

Charakteristisch für eine Mangeldurchblutung des Knochengewebes ist die zahlenmäßige Vermehrung der Lamellensysteme gegenüber der Norm. Dabei muß allerdings besonders betont werden, daß es sich bei den untersuchten Fällen um chronische Durchblutungsstörungen handelt, bei denen bereits ausgeprägte Regenerationsvorgänge eingetreten sind. SHERMAN und SELAKOVICH sowie BROOKES beobachteten dabei ein stärkeres Einwachsen von Gefäßen in die geschädigte Compacta, BURCKHARDT stellte eine Knochenneubildung fest, deren Stärke mit dem Grad der vorangegangenen Durchblutungsminde- rung zunahm.

Somit ist pathogenetisch eine direkte Beziehung zwischen Mangeldurchblutung und der Bildung junger Osteone zu erkennen. Damit erklärt sich die Zunahme der Gefäße und die Knochenneubildung. Weiterhin dürften auf Grund der herabgesetzten Zirkulation trotz reaktiver Gefäßzunahme die Diffusionsstrecken im Knochen verkürzt sein. Demzufolge entwickeln sich nur kleine Lamellensysteme, die rasch verkalken und von neuem ummauert werden.

Dieses Verhalten dürfte als Kompensationsversuch des Knochens anzusprechen sein. Die beobachtete Rarefizierung der Compacta würde auf diese Weise durch einen ausgesprochenen „Breccienbau“, der nach BARGMANN eine erhöhte mechanische Festigkeit gewährleistet, ausgeglichen. Für diese Hypothese sprechen auch die Untersuchungen von COOLBAUGH, der bei Unterbrechung der Blutzufuhr nach vorübergehender Dichteabnahme eine Zunahme der Compactadichte, verglichen mit normalem Knochen, fand. Ein analoges Verhalten zeigte der Elastizitätsmodul des untersuchten Materials.

Ist die Mangeldurchblutung so hochgradig, daß die regenerativen Tendenzen nicht oder nur in geringem Maße einsetzen können, so findet man das Bild des Schotterknochens. Die dabei gebildeten kleinen, irregulären Lamellen sind als frustrane Reparation aufzufassen. In diesem Sinne spricht die Anwesenheit reichlicher Osteoidsäume und das Fehlen geschichteter Fasersysteme.

Gegenüber diesen morphologischen Veränderungen sind die histochemischen vergleichsweise gering. Die verschieden intensive Anfärbung der einzelnen Lamellensysteme ist als Ausdruck ihres unterschiedlichen Alters anzusehen. Diese These wird — abgesehen von der typischen topischen Anordnung der Lamellen nach ihrem Alter — gestützt durch den Ausfall der PAS (Schiff)-Färbung, die mit Ausreifung der Knochengrundsubstanz zunimmt (McMANUS, P. C. MEYER) und so in den Schaltlamellen ihr Maximum erreicht. Dieser Prozeß geht parallel mit einer erhöhten Calciumeinlagerung (McLEAN, LEBLOND, BÉLANGER und GREULICH, sowie LACROIX u. Mitarb. so daß in den Schaltlamellen ein um 10–12% höherer Calciumgehalt als in den Osteonen resultiert (AMPRINO). So ist auch am entkalkten Knochen auf Grund der erfolgten Färbungen eine gewisse Aussage über den Kalkgehalt möglich.

Immerhin zeigen diese Untersuchungen eine Ursache für die Festigkeit des Breccienbaues mit seinen gehäuften Schaltlamellen und damit die Kompensationsvorgänge am mangeldurchbluteten rarefizierten Knochen. Sie erklären ferner das Fehlen röntgenologischer Zeichen, da mangelnde Dicke durch vermehrte Dichte ausgeglichen wird.

Ob eine Veränderung der von ASCENZI und CHIOZZO beschriebenen Struktur der Grundsubstanz selbst auftritt, ist mit den angewandten Methoden nicht zu entscheiden. Untersuchungen am nativen Knochen wären daher wünschenswert.

Das gleiche gilt für den Nachweis der Metachromasie, der in keinem der Präparate gelang. SOGNAES verneint in Übereinstimmung mit McMANUS eine solche beim ausgereiften Knochen. Dabei ist sie umgekehrt proportional der Stärke der PAS-Färbung, wie TAYLOR und SAUNDERS eindrucksvoll am wachsenden Bindegewebe zeigen konnten.

In dem untersuchten Knochen müßte es sich also um abgeschlossene Reifungsvorgänge handeln. Das wird durch die angeführte mechanische Festigkeit bestätigt. Das Fehlen der Metachromasie läßt sich vielleicht so verstehen, daß die

geschilderten Umbauvorgänge zwar gehäuft vorhanden sind, aber nur eine geringe örtliche Ausdehnung besitzen. Größere metachromatische Zonen sind damit nicht zu erwarten. Vielleicht könnte man sie zu Beginn der vorliegenden Regenerationsprozesse finden.

Letztlich müssen noch die Erscheinungen bei hochgradiger Mangeldurchblutung besprochen werden. Neben dem irregulären Aufbau des außerordentlich intensiv (Toluidinblau, PAS, Thionin) gefärbten Knochens fiel ein Schwund der lamellären Faserzeichnung auf. Nach dieser Beobachtung dürfte es bei extremen Durchblutungsstörungen zur Alteration des sonst nicht nachweisbar befallenen Kollagenanteils kommen.

Zusammenfassung

Bei histologischen Untersuchungen über die Folgen chronischer Durchblutungsstörungen für das Knochengewebe, einem Vergleich von gut und schlecht ernährten Knochenpartien amputierter Extremitäten, ergab sich: Im schlecht durchbluteten Knochengewebe tritt eine Rarefizierung der Compacta auf. Die Zahl der Lamellensysteme pro Flächeneinheit ist im mangelndurchbluteten Knochen sowohl in der Compacta als auch in der Spongiosa erhöht; die Altersdifferenz der einzelnen Systeme ist gegenüber der Norm gesteigert, junge Lamellen sind häufiger; an Osteocyten, Kittlinien, Knochenkanälchen und Fasern finden sich keine signifikanten Unterschiede.

Die beschriebenen Veränderungen werden als Regenerationsvorgänge zur Erhaltung der Knochenfestigkeit gedeutet. Erst wenn die Durchblutungsstörungen höhere Grade erreichen, werden diese Vorgänge gestört. Dann kommt es zur Bildung sehr kleiner, irregulär begrenzter Lamellen mit gleichzeitigem Schwund der geschichteten Fasern.

Summary

On histological study of the changes in osseous tissue produced by chronic circulatory disturbances a comparison of well- and poorly nourished portions of bone of amputated extremities showed:

In the bone with a poor blood supply a rarefaction of the compacta occurred. The number of lamellar systems per unit area was increased in both the compacta and the spongiosa. The differences in age of the individual systems were greater as compared to the normal. Young lamellae were more common. Osteocytes, cement lines, canaliculi and fibers showed no significant differences. The changes as described were interpreted as processes of regeneration to preserve the stability of the bone. Only when the circulatory disturbances become severe were these processes disturbed. Then, very small, irregularly delineated lamellae were formed and there was a simultaneous disappearance of the laminated fibers.

Literatur

- AMPRINO, R.: Autoradiographic analysis of the distribution of labelled Ca and P in bones. *Experientia* (Basel) 8, 1, 20—22 (1952).
 ASCENZI, A., and A. CHIOZOTTO: Electron microscopy of the bone ground substance using the pseudo-replica technique. *Experientia* (Basel) 11, 4; 140—142 (1955).
 BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Stuttgart: Georg Thieme 1956.

- BARTELHEIMER, H., u. J. M. SCHMITT-ROHDE: Osteoporose als Krankheitsgeschehen. *Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.* **7**, 454—585 (1956).
- BROOKES, M.: The vascular reaction of tubular bone to ischaemia in peripheral occlusive vascular disease. *J. Bone Jt Surg. B* **42**, 110—125 (1960).
- BURCKHARDT, H.: Erzeugung von Knochennekrosen vermittelt Anämisierung und Druckwirkung durch elastische Umschnürung. *Bruns' Beitr. klin. Chir.* **138**, 625—646 (1927).
- COOLBAUGH, C. C.: Effects of reduced blood supply on bone. *Amer. J. Physiol.* **169**, 26—33 (1952).
- DETTMER, N., J. M. SCHMITT-ROHDE u. F. J. HABERICH: Über histologisch und mikrodensometrisch nachweisbare postmortale Veränderungen der Knochengrundsubstanz. *Virchows Arch. path. Anat.* **328**, 324—336 (1956).
- JAFFE, H. L., and M. M. POMERANZ: Changes in the bones of extremities because of arterio-vascular disease. *Arch. Surg. (Chicago)* **29**, 566—588 (1934).
- KELLY, P. J., D. C. DAHLIN and J. M. JANES: Clinicopathological study of ninety-four limbs amputated for occlusive vascular disease. *J. Bone Jt Surg. A* **40**, 72—78 (1958).
- LACROIX, P., R. PONLOT et A. DHEM: Recalcification in vitro de l'os compact décalcifié. *Experientia (Basel)* **14**, 396—397 (1958).
- LEBLOND, C. P., L. F. BÉLANGER and R. C. GREULICH: Formation of bones and teeth as visualized by radioautography. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **60**, 631—659 (1955).
- MCLEAN, F. C.: The ultrastructure and function of bone. *Science* **127** (3296), 451—456 (1958).
- MCMANUS, F. A.: Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature (Lond.)* **158**, 202 (1956).
- MCMANUS, J. F. A.: Histochemistry of connective tissue. In: ASBOE-HANSEN, Connective tissue in health and disease. Copenhagen: Munksgaard 1954.
- MEYER, P. C.: The histological identification of osteoid tissue. *J. Path. Bact.* **71**, 325—333 (1956).
- MÜLLER, W.: Über das Verhalten des Knochengewebes bei herabgesetzter Zirkulation und das Bild von Nekrose der Zwischenlamellen. *Bruns' Beitr. klin. Chir.* **138**, 614—624 (1927).
- ROMEIS, B.: *Mikroskopische Technik*. München: Leibniz 1948.
- SHERMAN, M. S., and W. G. SELAKOVICH: Bone changes in chronic circulatory insufficiency. A histopathological study. *J. Bone Jt Surg. A* **39** (4), 892—901 (1957).
- SOGNNAES, R. F.: Microstructure and histochemical characteristics of the mineralized tissues. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **60**, 546—574 (1955).
- TAYLOR, H. E., and A. M. SAUNDERS: The association of metachromatic ground substance with fibroblastic activity in granulation tissue. *Amer. J. Path.* **23**, 525—537 (1957).

Dr. KLAUS LORENTZ

II. Medizinische Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin, Berlin-Charlottenburg
Städt. Krankenhaus Westend, Spandauer Damm 130