

Experimentelle Pathomorphogenese placentarer Verkalkungen*

Morphologische und analytische Untersuchungen mit dem Modell der Calciphylaxie

G. Brandt

Pathologisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. V. Becker)

Eingegangen am 1. April 1972

Pathomorphogenesis of Placental Calcification

Experimental Researches Using Selye's Model of Calciphylaxis

Summary. Granular calcification is seen in one third of all human placentas. Its pathogenesis has been the object of various hypotheses. Experimental researches, using Selye's model of calciphylaxis, have been carried out on 120 rats undergoing 778 pregnancies in order to find the etiology and pathomorphogenesis of placental calcification. The calcium metabolism was hereby increased by applying oral dosis of dihydrotachysterol (1 mg/100 g at the 14th day of pregnancy). Single injections of estrogen (0.01—0.02 mg/100 g), progesterone (10 mg/100 g), testosterone (2.5—5 mg/100 g), iron (4 mg/100 g) and ethionine (25 mg/100 g) served as so-called challenging agents.

Results: Dihydrotachysterol increases the analytically measurable calcium content of the placenta without reacting with a histochemically detectable granular calcium precipitation. Under calciphylactic conditions testosterone, estrogen and ethionine lead to granular calcifications in the labyrinth of the placenta of the rat, whereby ethionine induces the highest calcium content in comparison to the other two substances and testosterone the lowest. Progesterone decreases placental calcium uptake caused by dihydrotachysterol. Intramuscular application of iron has no effect on the calcium content in the placenta of the rat. The sites of calcium deposits show the important influence that hemodynamic factors have in the localization of these calcifications.

Zusammenfassung. Granuläre Kalkablagerungen werden in einem Drittel aller menschlichen Placenten beobachtet. Ihre Pathogenese ist Gegenstand unterschiedlicher Hypothesen. Es wurden experimentelle Untersuchungen zur Frage der Ätiologie und Pathogenese der placentaren Calcifikation an 120 Ratten mit 778 Graviditäten mit dem Modell der Calciphylaxie nach Selye durchgeführt. Eine Calciumstoffwechselsteigerung wurde durch perorale Gabe von Dihydrotachysterin (1 mg pro 100 g; 14. Graviditätstag) erreicht. Als lokalisierend wirkende Substanzen (sog. challenger) diente eine einmalige Injektion von Östrogen (0,01—0,02 mg pro 100 g), Progesteron (10 mg pro 100 g), Testosteron (2,5—5 mg pro 100 g), Eisen (4 mg pro 100 g) und Äthionin (25 mg pro 100 g).

Ergebnisse: Dihydrotachysterin verstärkt den analytisch erfaßbaren placentaren Calciumgehalt, ohne mit größeren, histochemisch nachweisbaren Kalkausfällungen zu reagieren. Testosteron, Östrogen und Äthionin lösen unter calciphylaktischen Bedingungen granuläre Verkalkungen des Placentarlabyrinths aus, bei der verwendeten Dosis bei Testosteron relativ gering und bei Äthionin vergleichsweise am stärksten. Progesteron vermindert die Dihydrotachysterin-bedingte Kalkeinlagerung. Intramuskuläre Eisengaben verändern den Kalkgehalt der Placenta nicht. Die Topik der Kalkablagerungen weist auf einen bedeutenden Einfluß der Hämodynamik auf die Lokalisation der Verkalkungen hin.

Für die Pathologie der menschlichen Placenta geben die Untersuchungen den Hinweis, daß dem Sexualsteroidstoffwechsel mit relativem Überwiegen von Östrogen und/oder Testosteron über Progesteron in der Ätiopathogenese placentarer Verkalkungen entscheidende Bedeutung zukommt.

* Mit dankenswerter Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Kalkablagerungen in der menschlichen Placenta sind häufig und Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (Carus, 1837; v. Winckel, 1874; Mischel, 1958; Gassmann und Raue, 1960; Jeacock, 1963; Fox, 1964; u. v. a.). Die Kalkablagerungen werden teils vorwiegend in materne (Langhans, 1870, 1872), teils überwiegend in fetale Placentaanteile (Fränkel, 1871) lokalisiert. Angaben über die Häufigkeit placentarer Verkalkungen schwanken mit der Untersuchungsmethode: v. Winckel (1874) makroskopisch in 31,6%, Masters und Clayton (1940) röntgenologisch in 20%, Fleming (1943) röntgenologisch in 25%, Hartley (1954) bei postpartaler Durchleuchtung bis zu 90,08%, Fujikura (1963a) histologisch in 14,7%, Fox (1964) histologisch in 24,8%, Tindall und Scott röntgenologisch in 76% (30% mäßige, 2% extreme Stadien), Wiegand (1969) histologisch in 36%. Placentare Verkalkungen sind eher die Regel als die Ausnahme (Tindall und Scott, 1965). Die Ätiopathogenese der placentaren Verkalkung ist unklar. Zahlreiche Hypothesen wurden aufgestellt: Fujikura (1963a, b) sieht eine Beeinflussung durch das Alter der Mutter, die Anzahl der Geburten und die Jahreszeit. Jeacock (1963) fand eine verstärkte Kalkeinlagerung in Gestose- und Eklampsieplacenten. Fox (1964) widerlegte diese These und deutete die Verkalkungen als Folge fetaler Asphyxie. Strauss (1964) sieht sie als dystrophische Verkalkung bei organspezifischer Alterung an. Benirschke und Driscoll (1967) vermuten bei der placentaren Verkalkung eine monotone Antwort auf äußere Reize und sehen darin eine Vorratsform, aus der der Fetus bei Bedarf Calcium entnehmen kann. Tierexperimentelle Untersuchungen über die Pathomorphogenese der placentaren Verkalkung liegen unseres Wissens nicht vor. Wir versuchten mit dem experimentellen Modell der Calciphylaxie nach Seyle (1962) placentare Verkalkungen bei der Ratte auszulösen und auf folgende Fragen eine Antwort zu finden:

1. Wie bewältigt die Rattenplacenta ein verstärktes Calciumangebot?
2. Lassen sich durch Beeinflussung des Stoffwechsels der Placenta unter calci-phylaktischen Bedingungen placentare Verkalkungen auslösen?
3. Welche Deutungsmöglichkeiten ergeben sich für menschliche placentare Verkalkungen?

Material und Methoden

Entsprechend dem Modell Selye's wirkte Dihydratachysterin als „Sensitizer“. Als „Challenger“ wurden Progesteron, Testosteron, Östrogen, Eisen und Äthionin verwendet, um die genannten Stoffwechselstörungen zu erreichen. Die Gabe beider Substanzen erfolgte unmittelbar nacheinander. 120 weibliche Albinoratten (Sprague-Dawley, Stamm WW 59, Tierzuchtanstalt Paderborn) wurden unter Standardbedingungen (Altromin® und Wasser ad libitum) in Gruppen zu 2 oder 4 gehalten und nach vaginalcytologischer Kontrolle zu einem definierten Zeitpunkt gedeckt. Damit stand ein Tierkollektiv mit genau definiertem Graviditätsalter zur Verfügung. Tiere, die sich im Verlauf des Experiments als nicht gravide erwiesen, wurden durch andere ersetzt. Sensitizer und Challenger wurden am 14. Graviditätstag appliziert. Die Einteilung in Versuchsgruppen ergibt sich aus Tabelle 1.

Tötung der Tiere in Äthernarkose 2,5 und 7 Tage nach Injektion (16., 19. und 21. Graviditätstag bei durchschnittlicher Tragzeit von 22 Tagen bei diesem Stamm). Organfixation in 80% Alkohol. Einbettung in Paraffin. Färbung mit Haemalaun-Eosin und Trichromfärbung nach Masson-Goldner. Histochemischer Kalknachweis nach Voigt (1957). Bei jeweils 2 Placentaprobe pro Muttertier Bestimmung des Placenta-Frischgewichts und -Trockengewichts nach Trocknen bei 60° C bis zur Gewichtskonstanz. Quantitative Calcium- und Eisenbestimmung nach Säureaufschluß der getrockneten Organproben als Gesamtmineralbestimmung mit dem Atomabsorptionsspektrophotometer Beckman 495. Infrarotspektro-

Tabelle 1. Schema der Versuchsanordnung

Gruppe	Sensitizer (Dosis/100)	Challenger (Dosis/100)
1 ($n = 8$)		
2 ($n = 10$)	Dihydrotachysterin (1 mg)	
3 ($n = 10$)	Dihydrotachysterin (1 mg)	Progesteron i. m. (10 mg)
4 ($n = 8$)		Progesteron i. m. (10 mg)
5 ($n = 14$)	Dihydrotachysterin (1 mg)	Östradiol i. m. (0,01—0,02 mg)
6 ($n = 12$)		Östradiol i. m. (0,01—0,02 mg)
7 ($n = 12$)	Dihydrotachysterin (1 mg)	Testosteron i. m. (2,5—5 mg)
8 ($n = 10$)		Testosteron i. m. (2,5—5 mg)
9 ($n = 10$)	Dihydrotachysterin (1 mg)	Eisen i. m. (4 mg)
10 ($n = 8$)		Eisen i. m. (4 mg)
11 ($n = 10$)	Dihydrotachysterin (1 mg)	Äthionin i. p. (25 mg)
12 ($n = 8$)		Äthionin i. p. (25 mg)

photometrische Untersuchungen der Mineralablagerungen wurden an stark verkalkten Placenten (Gruppe 11) mit dem Infrarot-Spektralphotometer Beckman I R 10 durchgeführt. Untersucht wurden Differenz-Spektrogramme entfetteter verkalkter und nicht verkalkter Placenten, sowie die Asche von bei 600° C über 1 Std. veraschten Placenten der Gruppe 11.

Ergebnisse

Bei 120 Versuchstieren wurden 778 Placenten untersucht. Am 16. Schwangerschaftstag (2 Tage nach Gabe von Sensitizer und Challenger) konnten bei keiner Versuchsgruppe Unterschiede zur Kontrollgruppe 1 festgestellt werden.

1. Ergebnisse bei der Kontrollgruppe und bei Gabe des „Challenger“

Die Tiere nehmen rasch an Gewicht zu. Bei der Sektion finden sich makroskopisch große, blutreiche Placenten ohne Calcifikation. Histologisch ergibt der Kalknachweis in einem Teil der Placenten diskrete, staubförmige bis feingranuläre Calcifikationen in der Decidua basalis und im fetalseitigen Placentalabyrinth. Häufig sind histochemisch überhaupt keine Kalksalze nachweisbar. Die Gabe von Challenger ohne Sensitizer erbrachte in allen Gruppen (Gruppe 4, 6, 8, 10, 12) einen ähnlichen Placentabefund wie bei der Kontrollgruppe 1. Östrogen, Testosteron

und Äthionin retardierten die Gewichtszunahme der Muttertiere. Bis auf 2 östrogenbehandelte Tiere zeigten alle anderen gleichartig minutiöse Verkalkungen der Placenten. Bei 2 der östrogenbehandelten Tiere fand sich eine stärkere, feingranuläre Kalkeinlagerung in fetalseitige Labyrinthbälkchen.

2. Ergebnisse bei Dihydrotachysterin (DHT)-Gabe

Bei alleiniger Gabe der Sensitizer (AT 10, Bayer-Merck) verlieren die Muttertiere durchschnittlich 5% an Gewicht, haben für 3 Tage struppiges Fell und verminderte Nahrungsaufnahme. Placenten und Feten sind um $\frac{1}{3}$ kleiner als bei der Kontrollgruppe. Makroskopisch lassen sich keine Calcifikationen erkennen. Mikroskopisch finden sich in der Decidua basalis und in fetalseitigen Labyrinthbälkchen feingranuläre Kalkablagerungen wie bei der Kontrollgruppe, die aber viel regelmäßiger und dichter gelagert sind.

Tiere mit extremer Gewichtsabnahme zeigen in allen Gruppen stärkere Verkalkungen als Tiere mit geringerem oder keinem Gewichtsverlust.

Bei einem Tier, das durch extreme Gewichtsabnahme von 25% gegenüber 4% der anderen Tiere auffiel, beobachtet man stärkergradige, zum Teil streifenförmige Verkalkungen fetalseitiger Labyrinthbälkchen.

3. Ergebnisse bei Progesteron-induzierter Calciphylaxie

Die Tiere entwickeln sich entsprechend der Kontrollgruppe. Placenten und Feten sind ebenso groß wie bei der Kontrollgruppe und makroskopisch unauffällig. Histologisch finden sich geringste Kalkausfällungen. Nur bei einem Tier, das gegenüber der Gewichtszunahme der anderen Tiere der Gruppe 25% an Gewicht verlor, beobachtet man feingranuläre und streifige Kalkeinlagerungen in das fetalseitige Placentalabyrinth. Die 9 Placenten dieses Tieres waren unterschiedlich stark verkalkt, 3 waren ohne jede histochemisch erfaßbare Kalkeinlagerung. Die übrigen Tiere der Gruppe zeigen eher geringere Kalkablagerungen in der Placenta als bei alleiniger DHT-Gabe.

4. Ergebnisse bei Östrogen- und Testosteron-induzierter Calciphylaxie

Östrogen und Testosteron lösen unter calciphylaktischen Bedingungen ähnliche Veränderungen aus, so daß beide Substanzen zusammen besprochen werden können. Die Tiere (Gruppe 5 und 7) verlieren erheblich an Gewicht, haben struppiges Fell und nehmen wenig Nahrung und Wasser auf. Die Placenten und Feten sind wesentlich kleiner als bei der Kontrollgruppe. Östrogen und Testosteron wirken in Kombination mit DHT so toxisch, daß ein Teil der Feten abstirbt. Beim frühzeitigen intrauterinen Fruchttod ist der Fetus 7 Tage nach Substanzabgabe weitgehend resorbiert, von der Placenta sind die Decidua basalis und Reste des Placentalabyrinths erhalten. Verkalkungen werden bei diesem frühen intrauterinen Fruchttod nur im Grenzgebiet zwischen vitalen und nekrobiotischen Geweben gefunden. Nekrosen lagern keinen Kalk ein. Stirbt der Fetus zu einem späteren Zeitpunkt ab, so daß die fetalen Organe schattenhaft und das fetale Knorpelskelett gut zur Darstellung kommen, so findet man eine intensive Verkalkung des erhaltenen Placentalabyrinths. Die Verkalkung ist an der Labyrinthbasis massiv und scharfrandig und nimmt nach der fetalen Seite zu stetig

an Intensität ab (Abb. 1 c, 2 d). Die Placenten vitaler Früchte verkalken weniger intensiv und mit einem anderen Muster als die abgestorbener Feten. Das Maximum der Kalkablagerungen findet sich unter der fetalseitigen Labyrinthgrenze, die Intensität der Verkalkung nimmt von basal nach fetal zu (Abb. 1 b, 2 c). Die Morphogenese der Kalkablagerung läßt sich in dieser Gruppe gut verfolgen. Sie ist auch in Gruppe 2 in Andeutung und Gruppe 8 deutlich zu sehen. Die Verkalkungen beginnen mit schmalsäumigen Calcifikationen um die mütterliche Zentralarterie herum, steigen bis zum Nabelschnuransatz auf (Abb. 1 a), breiten sich dann unter der fetalseitigen Labyrinthgrenze seitlich aus und ziehen wieder in streifigen Zügen nach basal. Räumlich betrachtet erinnert dieses um den 19. Graviditätstag gefundene Bild an einen Regenschirm (Abb. 2 b). Bei zunehmender Kalk-einlagerung verteilen sich die Verkalkungen diffus über das Labyrinth mit Maximum in der fetalseitigen Labyrinthgrenze (Abb. 2 c).

5. *Ergebnisse der Eisen-induzierten Calciphylaxie*

Die Placenten und Feten entwickeln sich wie bei Gruppe 2. Histochemisch ist kein freies Eisen nachweisbar, die Kalkinkrustationen sind gegenüber Gruppe 2 (nur DHT) unwesentlich verstärkt. Intramuskuläre Injektion einer 100fachen therapeutischen Dosis eines Eisensalzes (kolloidales Eisen-III-hydroxid) führt zu keiner siderocalciphylaktischen Reaktion der Placenta.

6. *Ergebnisse der Äthionin-induzierten Calciphylaxie*

Äthionin führt unter calciphylaktischen Bedingungen zu einer allgemeinen Dystrophie der Versuchstiere mit starker Gewichtsabnahme, reduzierter Nahrungs- und Wasseraufnahme und struppigem Fell. Die Placenten sind wesentlich kleiner als bei der Kontrollgruppe (Abb. 3 a). Röntgenologisch lassen sich feinstreifige und schollige Verkalkungen nachweisen (Abb. 3 b). Histologisch erkennt man eine mangelhafte Entfaltung des Placentalabyrinths, das am 21. Graviditätstag intensiv verkalkt ist. Neben den Verkalkungen der Labyrinthbälkchen finden sich schollige Verkalkungen in der Decidua basalis und Kalkeinlagerungen in die Gefäße der Chorionplatte. Am 19. Graviditätstag findet man neben diffuser Labyrinthverkalkung auch das oben beschriebene Bild der Regenschirm-förmigen Kalk-einlagerung.

7. *Ergebnisse der analytischen Untersuchungen*

Die verkalkten Placenten bei Östrogen-, Testosteron- und Äthionin-induzierter Calciphylaxie ergeben infrarot-spektrophotometrisch gleichartige Kurven. Nach Acetontrocknung der Gewebeproben erweisen sich die Mineralablagerungen als tertiäres Calciumphosphat.

Nach Veraschung der Placenten zeigt sich, daß Anteile durch organisches Material überlagert wurden. Die Placentaasche besteht vorwiegend aus tertiärem Calciumphosphat, aus geringeren Mengen Calciumcarbonat und Spuren von primärem Calciumphosphat. Das Aschespektrogramm ist dem Spektrogramm von veraschtem Knochengewebe sehr ähnlich, so daß eine Apatitstruktur der placentaren Kalkablagerung wahrscheinlich ist; jedoch weist der stärkere Anteil an Calciumcarbonat darauf hin, daß keine indentische Mineralstruktur in Placenta

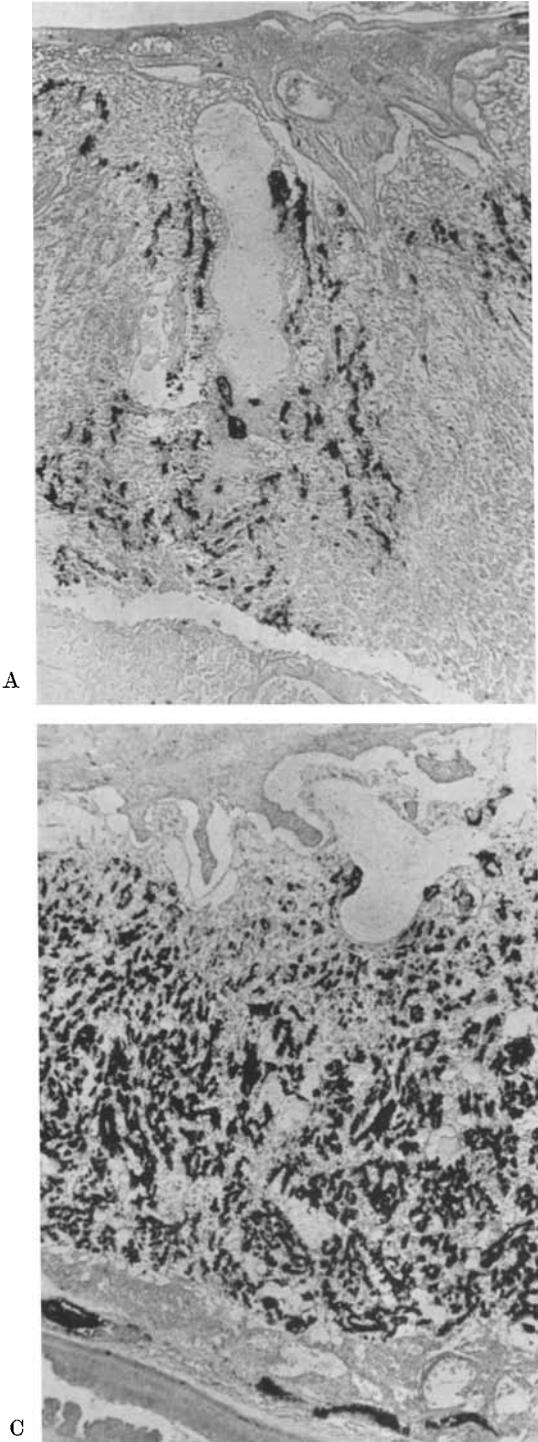


Abb. 1 A u. C

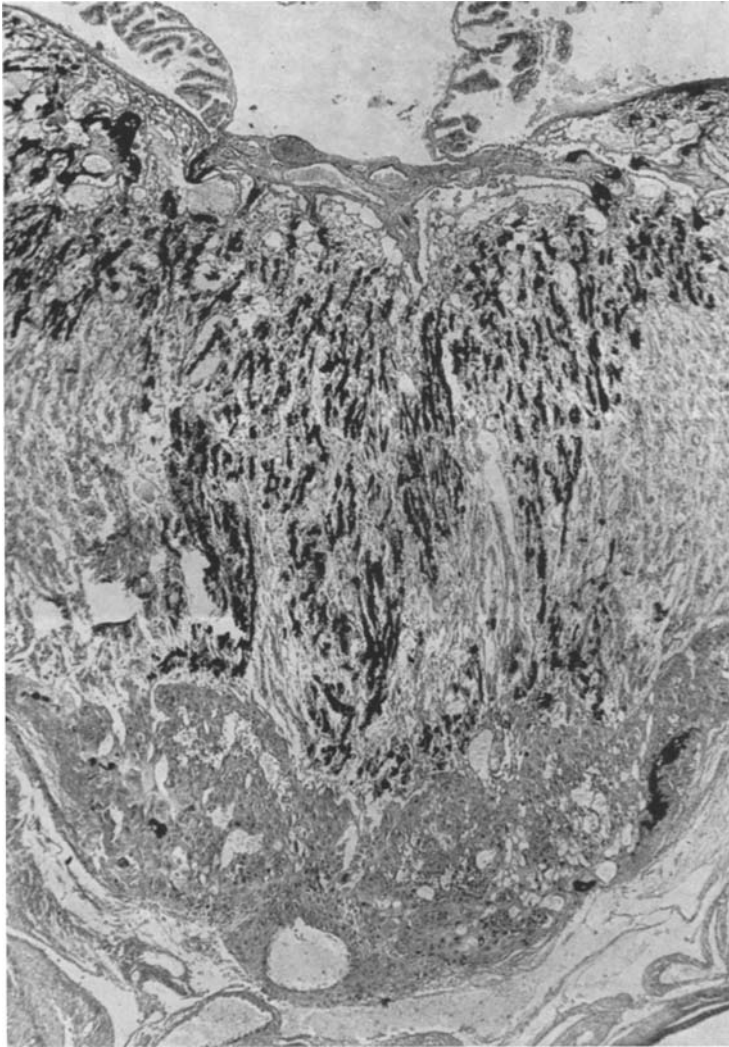


Abb. 1 B

Abb. 1 A—C. Calciphylaktische Reaktion der Rattenplacenta. A Beginnende Kalkablagerung um die mütterliche Zentralarterie herum und in fetalseitigen Labyrinthabschnitten. B Labyrinthverkalkung mit Maximum in der fetalseitigen Labyrinthgrenze bei vitaler Gravidität.

C Kalkeinlagerung mit Maximum in der Labyrinthbasis bei abgestorbener Gravidität

und Knochen vorliegt. Für die Verkalkungen in der menschlichen Placenta haben Einbrodt und Schmid (1965) die Apatitstruktur wahrscheinlich gemacht. Junge Verkalkungen in der menschlichen Placenta (Gade u. Einbrodt, 1963) ergeben einen nahezu identischen Kurvenverlauf wie bei der calciphylaktischen Reaktion der Ratte. Die analytischen Calciumbestimmungen (Abb. 4) zeigen, daß in allen Gruppen, die nur Challenger erhalten, der Calciumgehalt der Placenta nicht

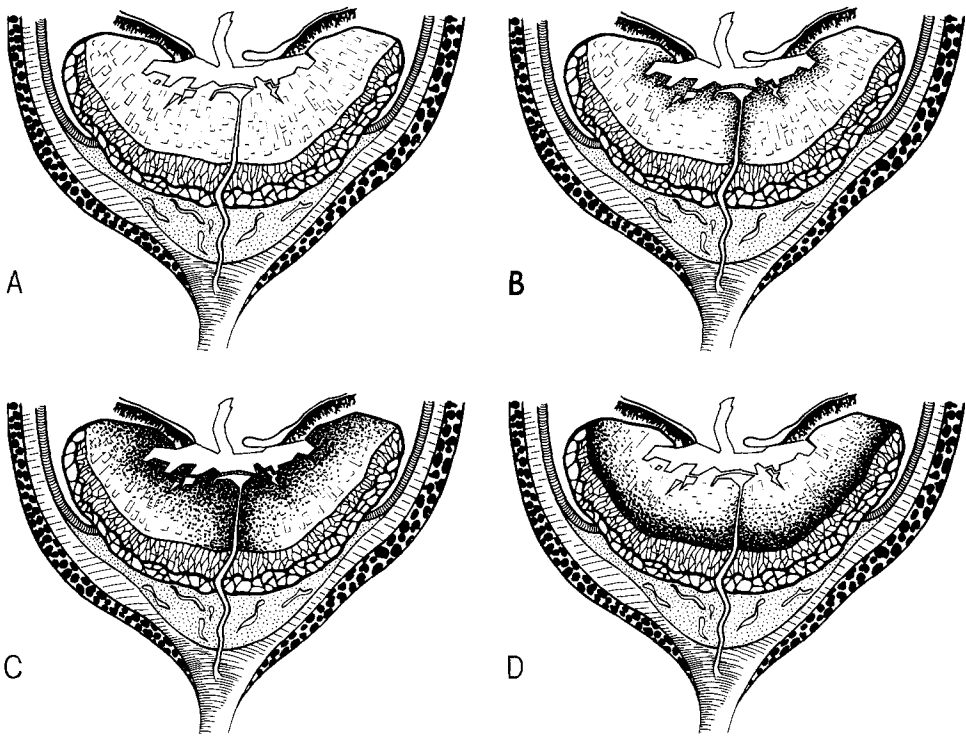


Abb. 2 A—D. Schematische Darstellung calciphylaktischer Reaktionen der Rattenplacenta. A Normale Placenta (Schema nach Franke, 1969). B Beginnende Kalkeinlagerung um die mütterliche Zentralarterie. C Labyrinthverkalkung mit starker Kalkablagerung unter der fetalseitigen Labyrinthgrenze bei vitalen Graviditäten. D Basale Labyrinthverkalkung bei abgestorbenen Feten

variiert. Er beträgt im Mittel 0,025 mg Calcium pro g frische und 0,16 mg Calcium pro g getrocknete Placenta. Dihydratichysterin erhöht bei Calciumgehalt auf das 2—3 $\frac{1}{2}$ fache. Nur bei hohen Werten (3—3 $\frac{1}{2}$ facher Normwert) werden histochemische Kalkausfällungen beobachtet. Progesteron vermindert die DHT-bedingte Calciumeinlagerung auf das 1 $\frac{1}{2}$ —2fache der Kontrolltiere. Nur ein Tier mit einem Gewichtsverlust von 25% hatte in der Placenta einen 10fach erhöhten Kalkgehalt (0,149 mg Calcium/pro g Trockengewicht). Calciphylaktische Reaktionen unter Testosteron ergeben bis 10fach erhöhte, unter Östrogen bis über 20fach erhöhte Kalkmengen gegenüber der Kontrollgruppe. Äthionin in Kombination mit DHT löst die vergleichsweise stärkste placentare Kalkeinlagerung aus, gegenüber den Kontrolltieren ist der Kalkgehalt auf bis über das 30fache gesteigert (maximal 4,67 mg Calcium pro g Trockengewicht). Der Vergleich analytischer und histochemischer Befunde ergibt übereinstimmende Ergebnisse. Um histochemisch größere Kalkausfällungen erfassen zu können, muß der Kalkgehalt der Placenta, bezogen auf das Trockengewicht, auf das 3fache der Norm gesteigert sein (etwa 0,5 mg Calcium pro g Trockengewicht).

Der Eisengehalt der Placenta schwankt in allen Gruppen unabhängig von der Behandlung um den Mittelwert 0,5 mg Eisen pro g Trockengewicht (gleichmäßige

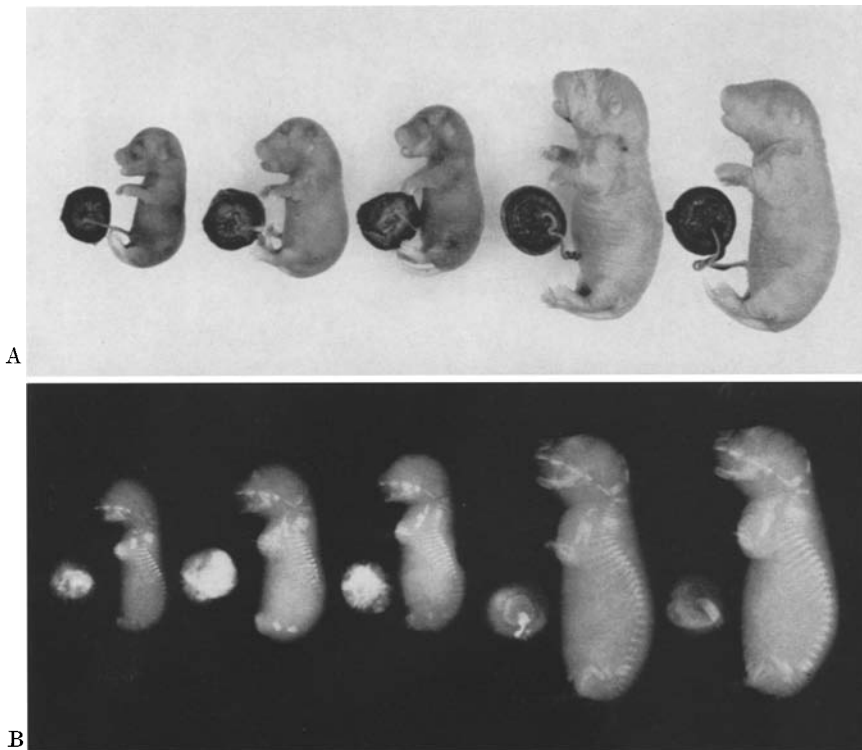


Abb. 3. A Drei mangelhaft entwickelte Feten mit verkalkten Placenten nach Äthionin-induzierter Calciphylaxie am 21. Schwangerschaftstag links, zwei Kontrolltiere vom gleichen Versuchstag rechts. B Dieselben Tiere bei Röntgendurchleuchtung

Streuung plus-minus 0,2 mg). Auch die intramuskulären Eisengaben erhöhen den Eisengehalt der Placenta nicht merkbar. Offenbar wird das Eisen aus dem Muskeldepot protrahiert an das hämopoetische System abgegeben und nicht in der Placenta angereichert.

Diskussion

Mit der Calciphylaxie (Selye, 1962) wurde ein experimentelles Modell gefunden, welches das Studium extraossärer Kalkablagerungen exakt ermöglicht (Seifert und Junge-Hülsing, 1966). So wurde die Pathogenese der calcifizierenden Pankreatitis (Seifert, 1965a), der Lungenfibrose (Schäfer, 1968), der Arteriencaleinose (Seifert und Dreesbach, 1966), der Kalkablagerung in der weiblichen Brustdrüse (Brandt und Bässler, 1969) und der Herzgerüstverkalkung (Riesner und Seifert, 1972) experimentell belegt. Morphologische und biochemische Aspekte bei der calciphylaktischen Reaktion (Seifert und Junge-Hülsing, 1966; Seifert, 1970) zeigen, daß die Verkalkung als aktiver Stoffwechselvorgang verstanden werden muß, indem u.a. der Mesenchym- und Calciumstoffwechsel aktiviert wird und verkalkungshemmende und -fördernde Faktoren in der Art einer Kettenreaktion ineinandergreifen (Seifert, 1965b).

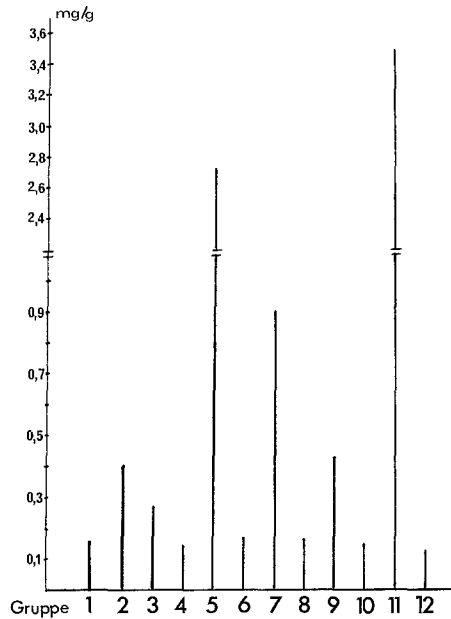


Abb. 4. Mittelwerte der Organcalciumgehalte aus jeweils 6 Placenten pro Versuchsgruppe vom 21. Schwangerschaftstag (in mg Calcium pro g Placentatrockengewicht)

Die vorliegenden Versuche zeigen, daß placentare Verkalkungen bei der Ratte mit dem Modell der Calciphylaxie erzeugt werden können. Die Rattenplacenta lagert während der normal verlaufenden, ungestörten Gravidität nur in geringen Mengen staubartig freies, histochemisch erfaßbares Calcium ab. Spontane granuläre Kalkinkrustationen werden lediglich in den Eihäuten gefunden. Der Gesamt-Calciumgehalt der reifen Rattenplacenta wurde recht konstant mit durchschnittlich 0,025 mg Calcium pro g frische, bzw. 0,16 mg Calcium pro g trockene Placenta ermittelt. Da histochemisch nahezu kein freies Calcium nachgewiesen wird, liegt der geringe Kalkgehalt offenbar in proteingebundener Form vor. Die menschliche Placenta hat einen weitaus größeren und stark schwankenden Calciumgehalt, bezogen auf frisches Gewebe 10fach größer (0,248 mg/g; Documenta Geigy) und auf Trockengewicht 30fach größer (0,55 mg/g: Einbrodt, Geller und Born, 1962). Die starken Schwankungen der Calciumwerte in menschlichen Placenten hatten Mischel (1958) dazu veranlaßt, den Gesamtcalciumgehalt der Placenta in vier Fraktionen einzuteilen. Wegen der geringen Materialmengen bei unseren Rattenversuchen konnten wir diese Einteilung nicht nachvollziehen. Der Versuchsbeginn wurde auf den 14. Graviditätstag gelegt, um toxisch bedingte Aborte zu vermeiden. Die Placentation ist um den 12. Graviditätstag bei der Ratte abgeschlossen (Franke, 1969).

Die Rattenplacenta reagiert auf die durch Dihydratichysterin ausgelöste Hypercalcämie und Erhöhung des frei verfügbaren „Calcium-pools“ (Remagen und Oeff, 1965) ohne gröbere Kalkausfällungen. Der Calciumgehalt ist um das $2\frac{1}{2}$ – $3\frac{1}{2}$ fache gegenüber der Norm erhöht. Nur bei den Tieren mit einem

Calciumgehalt der Placenta über dem 3fachen der Norm werden granuläre Kalkablagerungen gefunden. Offenbar ist dann ein „kritischer Kalkgehalt“ der Placenta erreicht, bei dessen Überschreitung es zu histochemisch erfaßbaren Kalkausfällungen kommt. Dies zeigt sich auch darin, daß in Placenten mit weniger als 0,2 mg/g Trockengewebe histochemisch nie Kalkablagerungen nachgewiesen werden und daß mit steigendem Calciumgehalt der Placenta auch vermehrt granuläre Kalkabscheidungen beobachtet werden.

Bei Gabe von Dihydrotachysterin und Testosteron, Östrogen oder Äthionin erfolgt eine granuläre Kalkeinlagerung in das Placentalabyrinth. Mit Äthionin werden die stärksten Verkalkungen erzeugt, der Calciumgehalt der Placenten ist bis zu 30mal größer als bei den Kontrolltieren.

Die Kalkablagerungen finden sich stets in den Labyrinthbälkchen, die bis zum 17. Graviditätstag einen Reifungsprozeß durchmachen und zwischen 18. und 22. Graviditätstag ihre Struktur nicht mehr wesentlich ändern (Franke, 1969). Offenbar ist in dem unreifen Placentalabyrinth des 14. Graviditätstages keine Kalkablagerung möglich. Erst mit zunehmender Reife der Placenta und Zunahme der bindegewebsreicheren Labyrinthbälkchen II. Ordnung (Franke, 1969) wird eine Kalkeinlagerung sichtbar. Als Matrix der Kalkablagerung bieten sich damit sowohl Zellorganellen von Labyrinthzellen als auch das interstitielle Fasergewebe und die Grundsubstanz an. Sowohl intracellulär an Mitochondrien und Phagolysosomen als auch extracellulär an Collagenfibrillen, elastischen Fasern und in mucopolysaccharidreicher Grundsubstanz wurden Verkalkungen beobachtet (Seifert, 1965b; 1968). An welchen dieser auch im Placentalabyrinth vorhandenen Strukturen die Mineralisation beginnt, ist lichtoptisch nicht zu entscheiden.

Offenbar lösen Östrogen, Testosteron und Äthionin an der Rattenplacenta lokale, zur Calcifikation führende Stoffwechselveränderungen aus, nachdem durch Dihydrotachysterin eine Verkalkungsbereitschaft geschaffen wurde. Östrogen verstärkt die Dihydrotachysterin-bedingten Verkalkungen von Aorta, Herz und Nieren (Selye, 1957; Brandt, 1968). Wie die diskreten placentaren Verkalkungen zweier nur mit Östrogen behandelter Ratten zeigen, erhöht Östrogen allein bereits die Calcifikationsbereitschaft der Placenta. Nach Selye (1957) und Selye und Tuchweber (1965) verstärken neben Östradiol auch Cortisol, ACTH und Thyroxin die Dihydrotachysterin-bedingten Kalkablagerungen, STH, Methyltestosteron und verschiedene andere anabole Corticoide wirken ihnen entgegen. Störungen des Proteinstoffwechsels erzeugen besonders leicht unter calciphylaktischen Bedingungen Kalkausfällungen in stoffwechselaktiven Organen (Brandt und Bässler, 1969). Bei der Entstehung placentarer Verkalkungen wirkt entscheidend begünstigend mit, daß die Placenta aktiv gegen ein Konzentrationsgefälle Calcium vom mütterlichen zum kindlichen Kreislauf transportieren muß, d.h., es muß eine „Calciumpumpe“ existieren. Kommt es zu einem Mißverhältnis zwischen überwiegender Calciumpumpe und vermindertem Calciumabtransport, so werden durch Überschreitung des Löslichkeitsproduktes Kalkausfällungen möglich. Ebenso wie das Epithel der Labyrinthbälkchen besitzt auch die Drüsenepithelzelle der weiblichen Brustdrüse eine aktive Calciumpumpe, wodurch sich möglicherweise die häufigen Kalkinkrustationen in Mammacarcinomen erklären (Brandt und Bässler, 1969).

Die topische Verteilung der Kalkablagerungen in Form des „Regenschirmes“ und das unterschiedliche Verkalkungsmuster bei vitalen und abgestorbenen Früchten offenbaren den Einfluß der Hämodynamik auf die Lokalisation der Kalkablagerungen. Bei intaktem fetalen Kreislauf werden die Kalkablagerungen unmittelbar neben den großen Stämmen der mütterlichen Zentralarterie mit dem Bild des „Regenschirmes“ zuerst gefunden. Die Kreislaufverhältnisse in der Rattenplacenta sind noch umstritten (Franke, 1969). Möglicherweise liegen die unmittelbar neben den großen Stämmen der mütterlichen Zentralarterie lokalisierten Labyrinthbalkchen in einer Zone vermehrter Sauerstoffausschöpfung und Kohlendioxidanreicherung, so daß bei absinkender Gewebsacidität besonders leicht Kalkausfällungen an präformierten Kristallisationskernen entstehen können.

Bei den abgestorbenen Früchten zeigt sich ein anderes Verkalkungsmuster: das Maximum der Kalkablagerung wird an der Labyrinthbasis gefunden, nach fetalseitig nimmt die Konzentration stetig ab. Durch den mütterlichen Blutstrom wird das Placentalabyrinth weiter ernährt und die placentare Calciumpumpe weiter unterhalten. Infolge des fehlenden Calciumabtransportes bei erloschenem fetalen Kreislauf werden Kalksalzausfällungen an veränderten Zell- und Bindegewebsstrukturen möglich. Avery und Aterman (1971) deuten in gleicher Weise Basalmembrancalcifikationen in menschlichen Placentazotten abgestorbener und retinierter Feten.

Progesteron verhindert das Dihydratichysterin-bedingte, verminderte Wachstum von Fetus und Placenta, die in der Größe den Kontrolltieren entsprechen. Die analytisch erfaßte Calciummenge ist bei Dihydratichysterin und Progesteron geringer als bei Gabe von Dihydratichysterin allein. Somit scheint Progesteron protektiv gegen placentare Verkalkungen zu wirken.

Die protrahierte, intramuskuläre Eisengabe führt trotz 100facher therapeutischer Dosis zu keiner vermehrten Einlagerung von Eisen und Kalk in die Placenta. Das muskuläre Eisendepot wird vermutlich protrahiert abgebaut und ohne Anreicherung in der Placenta von Milz und Knochenmark verarbeitet. Die Wirkung intraperitonealer oder intravenöser Eisengabe bleibt zu prüfen. Der kalknegative Befund bei der hochdosierten intramuskulären Eisengabe spricht gegen die Hypothese von Fujikura (1963a), der die große Häufigkeit und starke Intensität placentarer Verkalkungen bei jungen Erstgebärenden gegenüber älteren Graviden und Multipara mit dem größeren Eisenvorrat und -umsatz erklärt. Eisen wird in keiner der experimentell verkalkten Placenten vermehrt nachgewiesen. Dies spricht gegen die Deutung (Avery und Aterman, 1971), die placentare Verkalkung sei eine Reaktion auf Blutung und Fibrosierung, entsprechend den Gamna-Gandy-Knötchen der Milz.

Die Versuche ergeben für die menschliche placentare Verkalkung einige pathogenetische Deutungsmöglichkeiten. In der Gravidität wird der Calciumbedarf des wachsenden Fetus durch eine gewaltige Steigerung des mütterlichen Calciumumsatzes mit vermehrter Mobilisation von Calcium aus dem Knochen bewältigt. Progesteron-, Östrogen- und Testosteronproduktion nehmen während der Gravidität zu, ebenso steigt die Cortisolsekretionsrate (Documenta Geigy). Der placentare Calciumtransport vom mütterlichen zum kindlichen Kreislauf ist ein aktiver Vorgang im Sinne einer „Calciumpumpe“, wodurch schon physiologisch hohe lokale Calciumwerte erreicht werden. Ein Ungleichgewicht mit relativem Über-

wiegen von Östrogen und/oder Testosteron gegenüber Progesteron löst bei dem graviditätsbedingten gesteigerten Calciumumsatz eine verstärkte Verkalkungsbereitschaft aus und beeinflusst möglicherweise den diaplacentaren Kalktransport direkt über die Calciumpumpe. Der Dynamik des Blutstromes kommt für die Lokalisation der Kalkablagerungen eine erhebliche Bedeutung zu, da in Zonen vermehrter Sauerstoffausschöpfung und vermindertem Kohlendioxidabtransport Kalkablagerungen zuerst gefunden werden (Hörman und Lemtis, 1965).

Die Häufigkeit placentarer Kalkinkrustationen erklärt sich durch den aktiven diaplacentaren Calciumtransport und die Steigerung des Kalkumsatzes in der Gravidität. Bei der Anfälligkeit des placentaren Kalkstoffwechsels genügen offenbar nur geringe Stoffwechselentgleisungen, um placentare Verkalkungen auszulösen. Für die causale Pathogenese ergeben die Untersuchungen den Hinweis, daß ein Überwiegen von Östrogen und/oder Testosteron gegenüber Progesteron die Kalkablagerungen initiieren und hämodynamische Faktoren ihre Lokalisation bestimmen.

Literatur

- Avery, C. R., Aterman, K.: Calcification of the basement-membrane of placental villi. *J. Path.* **103**, 199—200 (1971).
- Benirschke, K., Driscoll, S. G.: Placental calcification. In: Henke-Lubarsch, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie. Plazenta, Bd. 7, Teil 5. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967.
- Brandt, G.: Experimentelle Pathomorphogenese von Verkalkungen in der weiblichen Brustdrüse. Dissertation, Mainz, 1968.
- Brandt, G., Bässler, R.: Pathomorphogenese experimenteller Verkalkungen in der weiblichen Brustdrüse. Ein Beitrag zur Calciphyllaxie. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **384**, 139—154 (1969).
- Carus, K. G.: Lehrbuch der Gynäkologie, 3. Aufl. Leipzig: Fleischer Verlag 1837.
- Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage, Basel 1969.
- Einbrodt, H. J., Geller, H. F., Born, J.: Der „dystrophische“ Kalkgehalt der normalen menschlichen Plazenta. *Arch. Gynäk.* **197**, 149—156 (1962).
- Einbrodt, H. J., Schmid, K. O.: Über abnorme Verkalkungen der menschlichen Plazenta bei Maternitätstetanie. *Arch. Gynäk.* **200**, 327—339 (1965).
- Fleisch, H.: Neue Gesichtspunkte der Kalkablagerung. *Schweiz. med. Wschr.* **91**, 858—861 (1961).
- Fleming, A. M.: Clinical significance of degree of calcification of placenta as demonstrated by x-ray photography. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp.* **50**, 135—139 (1943).
- Fox, H.: Calcification of the placenta. *J. Obstet. Gynec. Brit. Cwllth* **71**, 759—765 (1964).
- Fränkel, E.: Ueber Verkalkungen der Plazenta. *Arch. Gynäk.* **2**, 373—382 (1871).
- Franke, H.: Feinstruktur der Plazenta. Jena: VEB Gustav Fischer 1969.
- Fujikura, T.: Placental calcification and maternal age. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **87**, 41—45 (1963a).
- Fujikura, T.: Placental calcification and seasonal difference. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **87**, 46—47 (1963).
- Gade, U., Einbrodt, H. J.: Ultrarotspektroskopische Untersuchungen an Kalkablagerungen aus menschlichen Organen. *Naturwissenschaften* **50**, 21—22 (1963).
- Gassmann, W., Raue, H. J.: Zur Röntgenologie und Pathologie der Plazentaverkalkung. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* **20**, 399—403 (1960).
- Hartley, J. B.: Incidence and significance of placental calcification. *Brit. J. Radiol.* **27**, 365—380 (1954).
- Hörmann, G., Lemtis, H.: Die menschliche Plazenta. In: Schwalm-Döderlein, Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Bd. III. München und Berlin 1965.
- Jeacock, M. K.: Calcium content of the human placenta. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **87**, 34—40 (1963).

- Langhans, T.: Zur Kenntnis der menschlichen Plazenta. Arch. Gynäk. **1**, 319—334 (1870).
- Langhans, T.: Zur Kenntnis der Plazentaverkalkung. Arch. Gynäk. **3**, 150—153 (1872).
- Masters, M., Clayton, S. G.: Calcification of the human placenta. J. Obstet. Gynec. Brit. Emp. **47**, 437—443 (1940).
- Mischel, W.: Die anorganischen Bestandteile der Plazenta. IV. Mitteilung: Der Calciumgehalt der reifen und unreifen, normalen und pathologischen menschlichen Plazenta. Arch. Gynäk. **190**, 228—240 (1958).
- Remagen, W., Oeff, K.: Biochemisches und morphologisches Verhalten der Ratte bei Dihydrotachysterinbehandlung. Z. ges. exp. Med. **139**, 574—588 (1965).
- Riesner, K., Seifert, G.: Häufigkeit, Lokalisation und Pathogenese der Herzgerüstverkalkung. Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. **355**, 1—18 (1972).
- Robinson, R.: The possible significance of hexosephosphate esters in ossification. Biochem. J. **17**, 123—129 (1923).
- Schäfer, H.-J.: Zur Pathogenese der calciphylaktischen Lungenfibrose. Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. **344**, 21—39 (1968).
- Seifert, G.: Die calciphylaktische Pankreatitis. Virchows Arch. path. Anat. **388**, 319—331 (1965a).
- Seifert, G.: Verkalkung und Calciphylaxie. Med. Wschr. **90**, 2334—2339 (1965b).
- Seifert, G.: Pathologie der extraossären Gewebsverkalkungen. Ärztl. Prax. **20**, 539, 555—559 (1968).
- Seifert, G.: Morphological and biochemical aspects of experimental extraosseous tissue calcification. Clin. Orthop. **69**, 146—158 (1970).
- Seifert, G., Dreesbach, H. A.: Die calciphylaktische Arteriopathie. Frankfurt. Z. Path. **75**, 342—361 (1966).
- Seifert, G., Junge-Hülsing, G.: Morphologische Aspekte bei extraossären Verkalkungsvorgängen. In: Rheumatismus, Bd. 38, S. 34—39. Darmstadt: Steinkopff 1966.
- Selye, H.: Effects of various hormones upon the syndrome of dihydrotachysterol-(AT 10)-intoxication. Acta endocr. (Kbh.) **25**, 83—90 (1957).
- Selye, H.: Calciphylaxis. Chicago: Chicago University Press 1962.
- Selye, H., Tuchweber, B., Jacqmin, M.: Protection by various anabolic steroids against dihydrotachysterol induced calcinosis and catabolism. Acta endocr. (Kbh.) **49**, 589—602 (1965).
- Strauss, F.: Bau und Funktion der menschlichen Placenta. Fortschr. Geburtsh. Gynäk. **17**, 3—95 (1964).
- Tindall, V. R., Scott, J. S.: Placental calcification. A study of 3025 singleton and multiple pregnancies. J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth **72**, 356—373 (1965).
- Voigt, G. E.: Ein neuer histotopochemischer Nachweis des Calcium (mit Naphthalhydroxamsäure). Acta histochem. (Jena) **4**, 122—131 (1957).
- Wiegand, J.: Histologische Untersuchungen über die Lokalisation von Kalkniederschlägen in der menschlichen Plazenta. Dissertation, Berlin, 1969.
- Winckel, A. v.: Bericht und Studium aus dem kgl. sächsischen Entbindungsinstitut zu Dresden. Leipzig 1874. Zit. nach der Dissertation von A. Haffner, Untersuchungen über die physiologischen Verkalkungen der Plazenta, Erlangen, 1904.

Dr. med. Götz Brandt
 Pathologisches Institut
 der Universität Erlangen
 D-8520 Erlangen
 Krankenhausstraße 8/10
 Deutschland