

Vergleichende rasterelektronenmikroskopische Knochenuntersuchungen bei primärem und sekundärem Hyperparathyreoidismus

Zur Frage der periosteocytären Osteolyse*

R. Lindenfelser, H. P. Schmitt und P. Haubert

Abt. Pathologie (Vorstand: Prof. Dr. J. Schoenmackers)
und Institut für Gesteinshüttenkunde,
Lehrgebiet: Physikalisch-chemische Grundlagen der Keramik
(Priv.-Doz. Dr. W. Krönert)
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen

Eingegangen am 7. März 1973

Comparative Scanning Electron Microscope Investigations of Bone in Primary and Secondary Hyperparathyroidism

The Question of Periosteocytic Osteolysis

Summary. Stereoscopic structures of cancellous bone of human vertebral bodies were studied with a scanning electron microcope at autopsy of 2 cases of primary and 4 of secondary hyperparathyroidism.

One principle finding are enlarged resorbing surfaces all over numerous bone trabeculae.

There is a compensatory activity of forming surfaces, which brings about mineralizing fronts and extended active osteoid seams. Active fiber osteoid predominates in cases with secondary (renal). HPT. No morphological differences can be demonstrated on bone trabeculae of dialyzed or non-dialyzed patients.

These results are in a certain contrast to SEM findings in rat parietal bone after experimental PTH administration, which showed a striking increase of resting surfaces. These short-term animal experiments, however, are not really comparable to human chronic hyperparathyroidism.

The osteocytes of lamellar compact bone prove to be enlarged in cases of primary and secondary hyperparathyroidism as compared to specimens of normal compact bone. The difference is slight but is statistically significant. We explain this not as periosteocytic osteolysis but as an effect of the disturbed maturation brought about by defective mineralization of the osteocyte capsules.

Die Aktivierung von Calcium- und Phosphatmetabolismus beim primären und sekundären Hyperparathyreoidismus (HPT) geht mit einem zunehmenden Calciumverlust des Skelets einher. Dabei ist den nachfolgenden Strukturveränderungen am Knochen nicht anzusehen, ob sie durch ein Nebenschilddrüsenadenom, also durch ein primäres Überangebot von Parathormon hervorgerufen sind oder ob sie auf einer sekundären Hyperaktivität der Glandula parathyreoidea beruhen. Qualitative und graduell unterschiedliche Skeletbefunde können allenfalls dadurch entstehen, daß die renale Osteopathie — häufigste Form eines sekundären HPT — vielfältige Ursachen hat, also nicht nur auf einen erhöhten

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Herrn Dr. med. Bernhard Karhoff zum 60. Geburtstag.

Parathormonspiegel, sondern auch auf die Hyperphosphatämie, die metabolische Acidose und den funktionellen Vitamin D-Mangel zurückzuführen ist (Avioli *et al.*, 1968; Nichols *et al.*, 1969).

Die dissezierende Fibroosteoklasie als morphologisches Substrat des HPT ist in mechanisch stark belasteten und gut durchbluteten Skeletabschnitten besonders leicht zu analysieren (Uehlinger, 1956). Wir haben daher im folgenden zunächst die lamellären Strukturen der Wirbelkörperspongiosa von 2 Fällen eines primären und 4 Fällen eines sekundären HPT rasterelektronenmikroskopisch untersucht und miteinander verglichen.

Zahlreiche Untersuchungen über das Verhalten der Osteocyten gegenüber der sie umgebenden Knochenmatrix haben — unter den Bedingungen des experimentellen, primären und sekundären HPT vor allem — zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt. Während lichtmikroskopisch, elektronenmikroskopisch und mikroradiographisch von Baud (1962, 1968), Belanger (1969), Heuck (1968), Jande und Belanger (1971), Remagen *et al.* (1968) sowie Vittali (1968) übereinstimmend Knochenveränderungen im Sinne einer periosteocytären Osteolyse (Leriche und Policard, 1928) oder Onkose (von Recklinghausen, 1910; Rutishauser, 1963) beschrieben sind, wollen Cameron (1969) sowie Rowland *et al.* (1971) weder elektronenmikroskopisch noch mikroradiographisch eine resorptive Aktivität um Osteocyten festgestellt haben. Dem Problem dieses Gegensatzes soll im folgenden auch mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskopes anhand eines Größenvergleichs von Osteocytenlacunen nachgegangen werden, die von der Corticalis der Tibia unserer Fälle mit primärem oder sekundärem HPT, bzw. von 4 knochengesunden Erwachsenen stammen.

Material und Methoden

Das Untersuchungsgut stammt von je einer 49 und 63 Jahre alten Frau mit primärem HPT, die einer Herzinsuffizienz, bzw. einem paralytischen Ileus erlegen waren; ferner von 3 Männern mit 29, 46 und 66 Jahren, die an einer chronischen Glomerulonephritis litten und von einer 49jährigen Frau mit chronischer Pyelonephritis. Die beiden jüngeren Männer und die Frau befanden sich im chronischen Hämodialyseprogramm.

6—10 Std nach dem Tode aus dem 10. BWK entnommene Spongiosaproben wurden in gepuffertem Formalin fixiert. Anschließend wurde ein Teil der Proben in der aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert. Ein weiterer Teil der Proben wurde in Anlehnung nach Swedlow *et al.* (1972) nach dem Fixieren und vor dem Trocknen in 80% Hydrazinhydrat bei Zimmertemperatur geätzt und dadurch innerhalb von 24 Std sowohl von anhaftenden Weichteilen als auch nicht mineralisierter, organischer Matrix befreit.

Zur quantitativ — morphometrischen Erfassung der Osteocytenhöhlen wurden Compacta-querschnitte aus der Tibiadiaphyse verwandt. Diese Knochenstücke wurden nach vollständigem Dehydrieren — im Unterschied zu Margel (1971) ohne Einbettung — plan geschliffen, mit Diamantpaste nachpoliert und in Aceton gereinigt. Die Vergleichsstücke gesunder Compacta entstammten 4 Erwachsenen zwischen 50 und 70 Jahren, die an Herzinfarkten verstorben waren.

In einer Balzers Hochvakuumbedampfungsanlage BA 360 G mit Drehpendel und Schichtdickenmeßeinrichtung¹ wurde allen Proben eine Kohleschicht von ca. 150 Å und eine Goldschicht von ca. 250 Å aufgedampft. Den Untersuchern stand ein Rasterelektronenmikroskop Stereoscan der Firma Cambridge zur Verfügung¹.

¹ Leihgaben der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

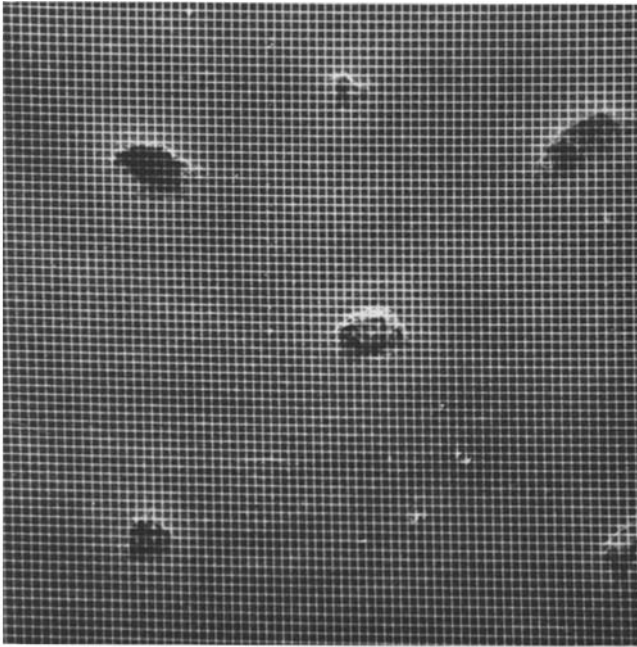


Abb. 1. Primärer HPT. Polierte Corticalis mit Osteocytenlacunen und Meßkoordinaten (vgl. Text). Vergr. = 1000 \times

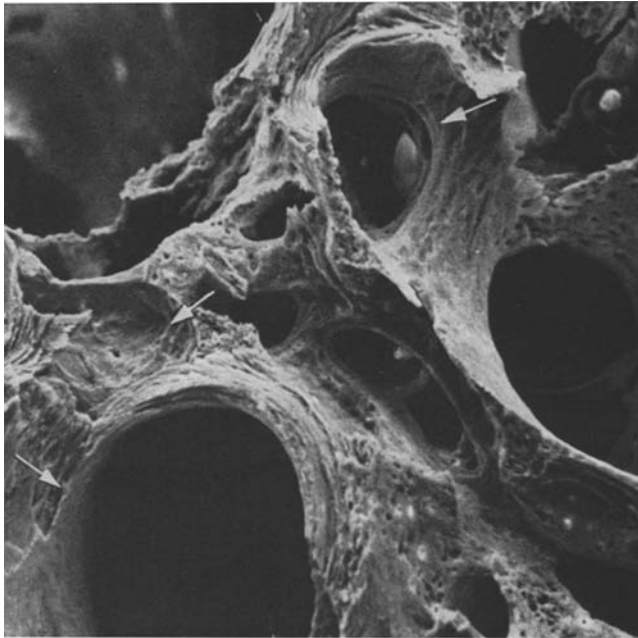
Zur Bestimmung der Lacunenflächen in den Compactaschliffen wurden die Knochenhöhlchen zunächst mit 1000facher Vergrößerung fotografiert. Anschließend wurde modifiziert nach Jones und Boyde (1970) sowie Boyde (1972) mit dem Scangenerator des Rasterelektronenmikroskopes ein Koordinatengitter von 6400 Einheiten/100 mm² auf dem Bildschirm erzeugt und durch Nachbelichtung in die Abbildungen der Lacunen übertragen. Das Rastermaß dieses Gitters beträgt 1,2 μ bei Vergr. 1000 \times (vgl. Abb. 1). Je 200 Lacunen wurden mit diesem definierten Koordinatensystem vermessen. Als Vergleich dienten 200 Lacunen von der Tibiadiaphyse der knochengesunden Erwachsenen.

Ergebnisse

Die Übersicht einer mit Hydrazin entkollagenisierten Probe von der Spongiosa bei primärem HPT läßt den teils linear, teils konzentrisch lamellären Aufbau einzelner größerer Trabekel erkennen (Abb. 2a). Zahlreiche überwiegend an der Innenseite von Gefäßkanälen gelegene, zusammenhängende Resorptionsfelder sind Ausdruck der pathologisch gesteigerten Osteoclasie.

Das einzelne Knochenbälkchen (Abb. 2b) zeigt auf Grund der erhöhten resorptiven Aktivität von mehreren Seiten her angenagte Strukturen. Unmittelbar neben den Howshipschen Lacunen liegen ausgedehnte „ruhende“ Oberflächen (Boyde und Hobdell, 1969) mit einer gleichförmigen, mineralisierten Fasertextur.

Im Detail einer resorptiv aktiven Oberfläche des sekundären HPT (Abb. 2c) finden sich nach kurzzeitiger Vorbehandlung in Hydrazin dicht liegende Buchten



a

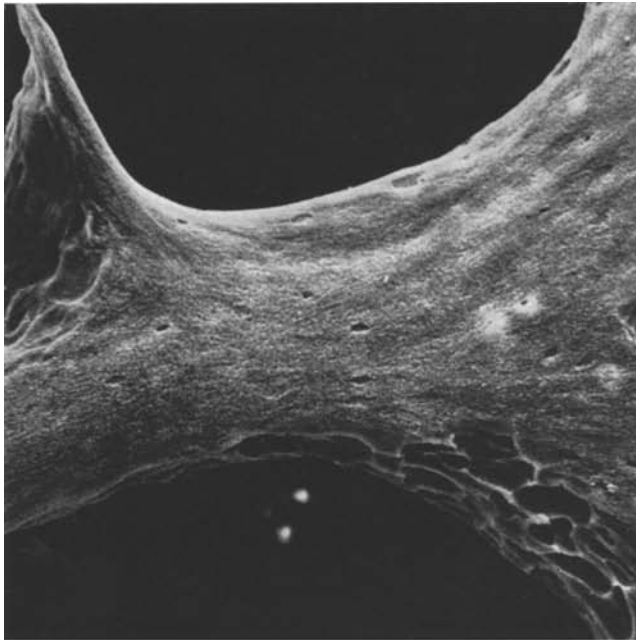
Abb. 2a. Primärer HPT. Übersicht einiger Spongiosabälkchen mit gesteigerter lacunärer Osteoclasie, vorwiegend in den Gefäßkanälen (\rightarrow). Verg. $110\times$. b Primärer HPT. Ein Trabekel der Spongiosa, der von den Rändern her lacunär abgebaut wird. Im Zentrum „ruhende“ Oberfläche. Vergr. $250\times$. c Sekundärer HPT. Detail einiger Osteoclastenbuchten. Unterschiedlich gerichtete Fasern an der Rückwand dieser Buchten gehören den arradierten Knochenlamellen an. Verg. $1050\times$

von Osteoclasten. Am Boden dieser Buchten sieht man ein zartes, jeweils deutliches Faserbild. Da im Verlauf der Resorption von den Osteoclasten unterschiedlich tief liegende Lamellen arradiert worden sind, haben die Fasersysteme in den einzelnen Osteoclastenhöhlen unterschiedliche Verläufe.

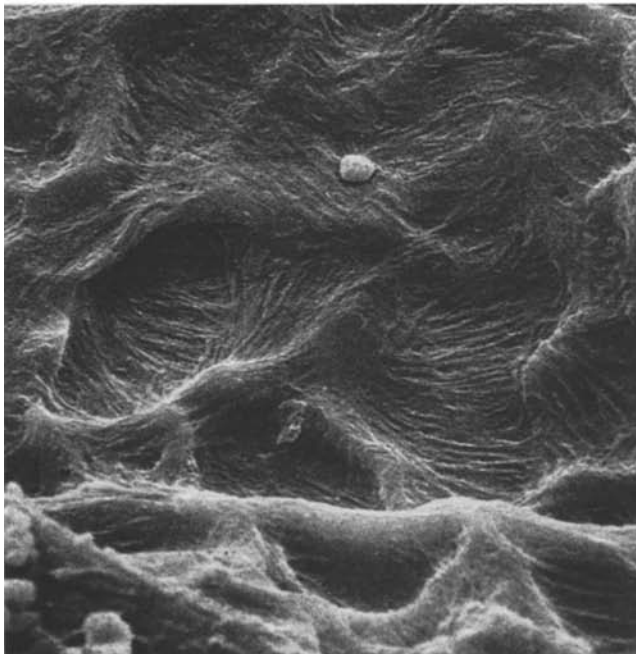
Selbst in unmittelbarer Nachbarschaft einer vermehrten Resorption fallen regelmäßige, glatte Flächen auf, die durch zahlreiche Osteocytenlacunen unterbrochen sind (Abb. 3). Diese „halbfertigen“ Lacunen liegen innerhalb eines noch nicht vollständig mineralisierten Areals; denn die zwischen ihnen verlaufenden, gleichförmigen Fasersysteme zeigen kleinste Unterbrechungen, da ihr noch nicht mineralisierter Anteil durch Hydrazin gelöst ist. Diese besonders häufig auftretenden Zonen entsprechen der erstmals von Boyde und Hobdell (1969) dargestellten Mineralisationsfront einer im Aufbau befindlichen Oberfläche.

Derartige, noch nicht voll mineralisierte Aufbauzonen werden zu ruhenden Oberflächen, wenn die Mineralisationsfront die neu gebildete organische Matrix eingeholt hat (Abb. 4). Die gleichförmige Fasertextur ruhender Flächen läßt sich durch Einwirkung entkollagenisierender Stoffe nicht mehr verändern.

Vielfach werden in Aufbau begriffene und vor allem ruhende Zonen durch verstärkte Resorption wieder aufgeschlossen und abgebaut. In Abb. 5 sieht man



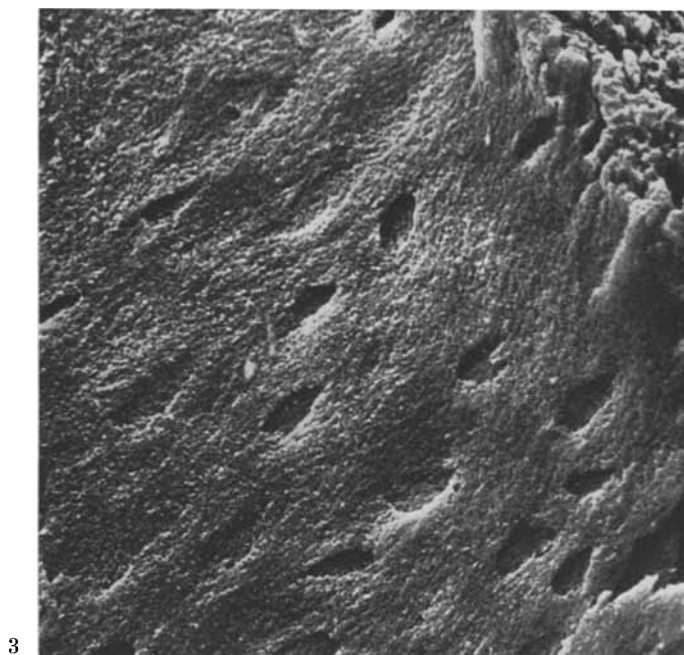
b



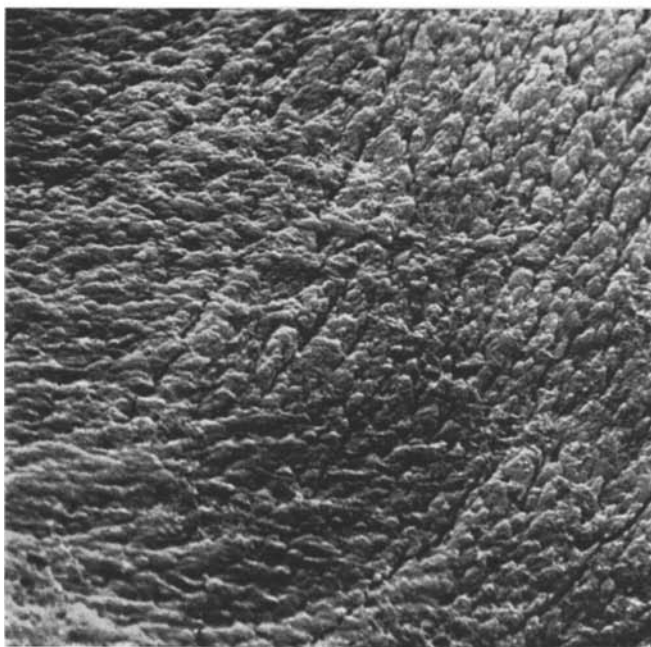
c

Abb. 2b u. c

eine schmale Resorptionsrinne, die mäanderförmig in eine ruhende Oberfläche hineinläuft. Diese Abbauförmigkeit kann man an der normalen Spongiosa kaum einmal beobachten.



3



4

Abb. 3. Sekundärer HPT. Mineralisationsfront einer im Aufbau befindlichen Oberfläche mit zahlreichen „halbfertigen“ Lacunen. Vergr. 1000 \times

Abb. 4. Primärer HPT. „Ruhende“ Oberfläche. Gleichförmiges, regelmäßiges Faserwerk nach Einwirkung von Hydrazin. Vergr. 2300 \times

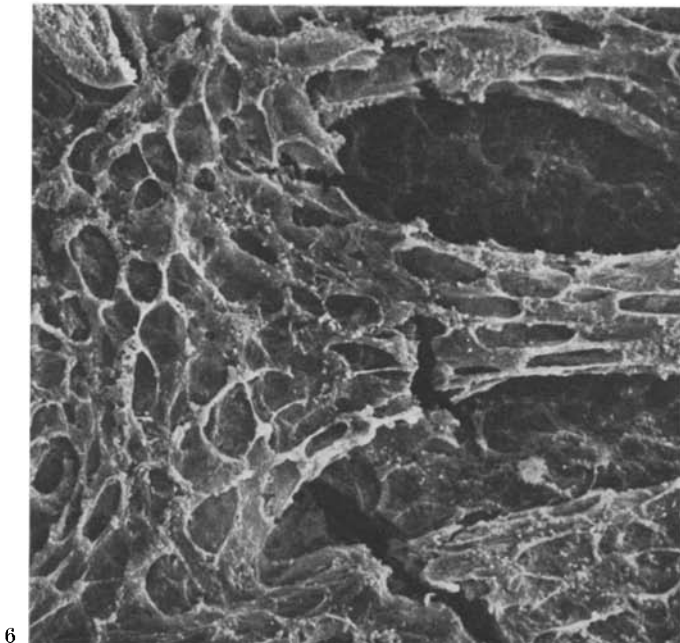
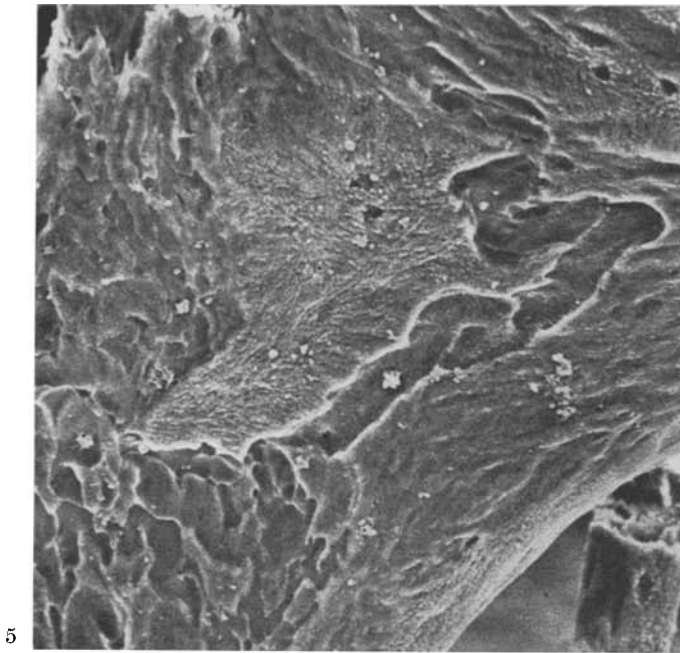


Abb. 5. Primärer HPT. Mäanderförmige Resorptionsrinne innerhalb einer „ruhenden“ Oberfläche. Vergr. 450 \times

Abb. 6. Sekundärer HPT. Hohe Osteoblastenaktivität an der Oberfläche eines Knochenbälkchens. Keine Vorbehandlung mit Hydrazin. Vergr. 950 \times

Tabelle 1. Übersicht über Mittelwerte (\bar{x}), Standardabweichungen (s_x) und Vertrauensbereiche für die Mittelwertsschätzungen ($s_{\bar{x}}$) der Flächenmessungen der Osteocytenlacunen

	Indi- viduen n_i	Lacunen Σn_i	Fläche (μ^2) \bar{x}	s_x	$s_{\bar{x}}$	P	Vertrauens- bereiche
Normale	4	200	45,20	$\pm 6,83$	$\pm 0,95$	0,05	$\bar{x}_{\text{oben}} = 46,15$ $\bar{x}_{\text{unten}} = 44,25$
p HPT	2	200	46,70	$\pm 7,41$	$\pm 1,03$	0,05	$\bar{x}_{\text{oben}} = 47,73$ $\bar{x}_{\text{unten}} = 45,67$
s HPT	4	200	48,54	$\pm 6,62$	$\pm 0,92$	0,05	$\bar{x}_{\text{oben}} = 49,46$ $\bar{x}_{\text{unten}} = 47,62$

Primärer und sekundärer HPT lassen sich mitunter durch die Intensität der Osteoidbildung an den Oberflächen der Trabekel unterscheiden. Ausgedehnte osteoide Säume (Abb. 6) — hier an der Oberfläche eines sich verzweigenden Bälkchens — haben sich beim renalen HPT häufiger als beim primären HPT darstellen lassen. Derartige Bälkchenoberflächen sind durch eine dicht stehende Zellage osteoblastisch aktiver Zellelemente beherrscht, die sich unter Hydrazinwirkung auflösen.

Die Markraumfibrose kann beim primären und sekundären HPT gleich intensiv sein. Sie erzeugt ein feines, irreguläres Fasernetz ohne gerichtete Orientierung (Abb. 7a). Innerhalb dieses Fasernetzes kann sich Bindegewebsknochen entwickeln, der sich nach dem Entkollagenisieren entsprechend der Abb. 7b mit Gefäßkanälen und zahlreichen, dicht stehenden ungleichmäßig angeordneten Lacunen darstellen läßt.

Statistische Analyse²

Die Flächenmittelwerte der Osteocytenhöhlen in der Compacta von 4 knochengesunden Erwachsenen (\bar{x}_1), der 2 Fälle mit primärem HPT (\bar{x}_2) und der 4 Fälle mit sekundärem HPT (\bar{x}_3) wurden auf Signifikanz der Differenzen geprüft. Da der *t*-Test Normalverteilung und Varianzhomogenität verlangt, wurde zunächst die Normalverteilung der 3 Kollektive entsprechend Kolmogoroff-Smirnow modifiziert nach Lilliefors (1969) kontrolliert. In allen Kollektiven wurde die Normalverteilung auf dem Sicherheitsniveau von 95 % akzeptiert, da die Testgröße $\hat{D}_{95} \%$ in jedem Fall kleiner als D_{1-3} war ($D_1 = 0,112$; $D_2 = 0,086$; $D_3 = 0,116$; $\hat{D}_{95} \% = 0,063$). Die Normalverteilung der Lacunenmessungen zeigt auch, daß zwischen den untersuchten Individuen (n_i) keine individuellen Differenzen in der Größe der Osteocytenhöhlen bestehen. Die Individuen entstammen damit in jedem der 3 Kollektive der gleichen Grundgesamtheit.

Die Varianzen (s^2) wurden mit dem F-Test auf Signifikanz ihrer Differenzen geprüft. Dabei ergab sich, daß die Variation in der Größe der Osteocytenlacunen bei den 3 Kollektiven gleich ist.

Tabelle 1 faßt die Ergebnisse der Mittelwertberechnungen und des *t*-Tests zusammen. In Abb. 8 sind die fortlaufenden Mittelwerte und die Mittelwerte aus 200 Stichproben mit ihren Vertrauensintervallen auf dem Sicherheitsniveau von 95 % dargestellt.

² Mit Unterstützung der Abt. Medizinische Statistik und Dokumentation (Prof. Dr. Repges).

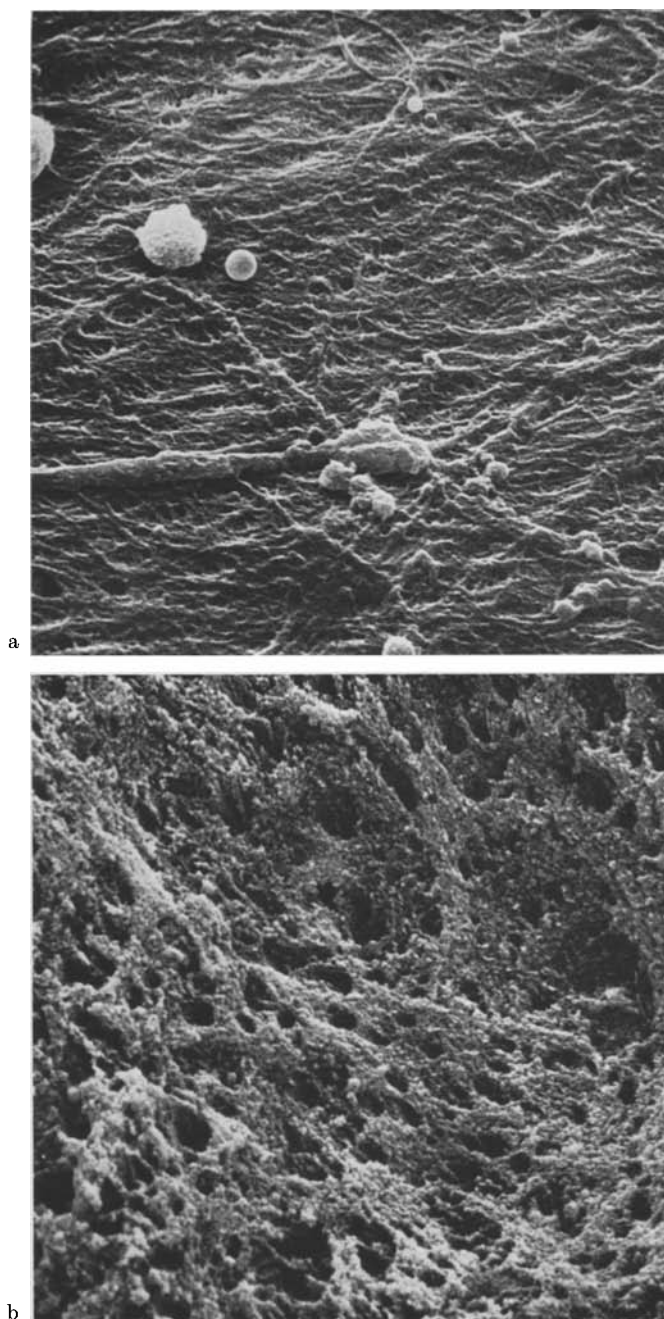


Abb. 7. a Primärer HPT. Markraumfibrose, unregelmäßig — feinfaserige Struktur mit einigen Verunreinigungen, wahrscheinlich durch Eiweiß. Keine Vorbehandlung mit Hydrazin. Vergr. 1000 \times . b Primärer HPT. Desmale Knochenbildung innerhalb eines Markraumes. Bindegewebsknochen mit kleinen Gefäßkanälen und zahlreichen Osteocytenlacunen. Vergr. 1100 \times

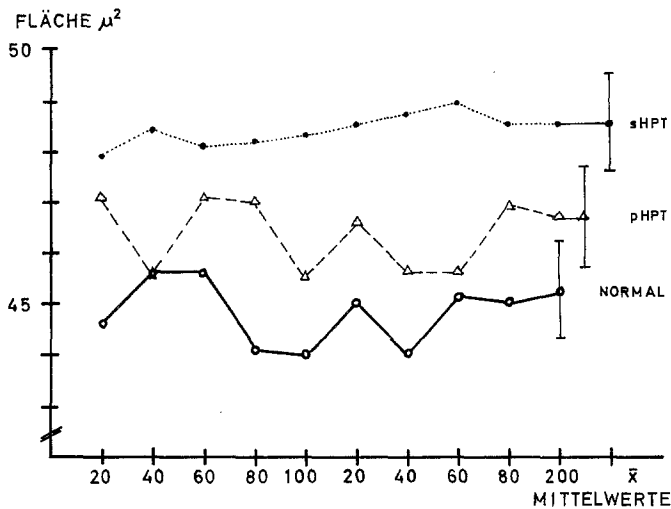


Abb. 8. Fortlaufende Mittelwerte der Flächenmessungen in Intervallen von $n_{1-i}=20$ für die 3 untersuchten Kollektive. Zu dem Mittelwert n_{200} sind jeweils die in Tabelle 1, letzte Spalte angegebenen Vertrauensbereiche der Mittelwertschätzung eingezeichnet. Weitere Erläuterungen im Text

Es zeigt sich eine signifikante Differenz der Mittelwerte des Normalkollektivs mit denen des sekundären HPT; das heißt, die Osteocytenhöhlen sind beim sekundären HPT signifikant größer als bei Normalpersonen. Da sich die Vertrauensbereiche der Mittelwerte für normalen Knochen und primären HPT einerseits sowie für primären HPT und sekundären HPT andererseits überlappen, ist die Differenz aus der gegebenen Stichprobenzahl nicht zu sichern. Man kann aber damit rechnen, daß bei entsprechender Vergrößerung der Stichprobenzahl durch Verkleinerung der Vertrauensgrenzen für den Mittelwert, die Mittelwertsdifferenzen schließlich signifikant werden, da nämlich $s_{\bar{x}}$ auch von der Stichprobenzahl n abhängt ($s_{\bar{x}} = t \frac{s}{\sqrt{n}}$).

Diejenige Stichprobenzahl, die zur Sicherung der Mittelwertsdifferenzen notwendig wäre, läßt sich nach Simpson *et al.* (1960) berechnen:

$$n = \frac{2s_{\max}^2 (t_{\bar{x}_1} + t_{\bar{x}_2})}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}.$$

Für x_1/x_2 ergeben sich ca. 500, für x_2/x_3 ca. 760 notwendige Stichproben. Bei den wenigen verfügbaren Fällen von primärem HPT ließ sich die Untersuchung nicht auf diesen Umfang ausdehnen. Deshalb wurde durch Bildung fortlaufender Mittelwerte abgeschätzt, ob bei weiterer Vergrößerung der Stichprobenzahl noch mit nennenswerten Mittelwertschwankungen zu rechnen ist. Abb. 8 zeigt, daß im Normalkollektiv der fortlaufende Mittelwert zwischen $43 \mu^2$ und $45 \mu^2$, beim sekundären HPT nur zwischen $48,1 \mu^2$ und $48,9 \mu^2$ schwankt. Ab \bar{x}_{60} erreichen die Einzelmittelwerte in keinem Fall mehr den jeweiligen Parallelwert der Nachbarkollektive.

Man darf daher annehmen, daß mit weiter zunehmender Stichprobenzahl die Mittelwerte nicht mehr zusammenfallen werden und daß damit die Größe der Vertrauensintervalle nur vom Stichprobenumfang abhängt.

Die Osteocytenhöhlen in der Compacta der Tibiadiaphyse sind also beim primären und beim sekundären HPT signifikant größer als im normalen Vergleichskollektiv.

Besprechung der Ergebnisse

Erste rasterelektronenmikroskopische Ergebnisse am gesunden lamellären Knochen von Mensch und Tier haben Boyde und Hobdell schon 1969 vorgelegt. Mit den Strukturen der normalen lamellären Spongiosa des Erwachsenen hat sich der eigene Arbeitskreis (Lindenfelser *et al.*, 1970, 1971) befaßt. Im Gegensatz zu diesen Normalbefunden steht beim primären und sekundären HPT eine ausgeprägte lacunäre Osteoclasie im Vordergrund, die von den Zwickeln zwischen aneinandergrenzenden Trabekeln auf die Bälkchen in ganzer Ausdehnung übergreifen kann, ein Befund, der an der gesunden Spongiosa lamellosa nicht zu erheben ist.

Trotz dieser starken lacunären Resorption ist im allgemeinen aber das Volumen der Knochenbälkchen beim primären und sekundären HPT nicht reduziert. Selbst in unmittelbarer Umgebung eines fortgeschrittenen resorptiven Abbaus treten nämlich ruhende, vor allem aber aktive, im Aufbau befindliche Flächen mit morphologisch normal erscheinender Mineralisation auf, die sich nicht von entsprechenden Strukturen normaler Spongiosa unterscheiden lassen. Übereinstimmend damit haben Duursma *et al.* (1972) in einer lichtmikroskopisch morphometrischen Untersuchung an 30 Patienten mit renaler Osteopathie gezeigt, daß nur die qualitative Zusammensetzung des Knochens, nicht aber sein Volumen von dem normaler Individuen abweiche. — Wir werten die aufbauaktiven Oberflächen an den entkollagenisierten Spongiosatrabekeln beim Hyperparathyreoidismus als Kompensationsversuch zum Ausgleich der gesteigerten Osteoclasie. Auch die aktiven osteoiden Säume, die sich im Unterschied zum primären HPT bei unseren Fällen renaler Osteopathie häufig und ausgedehnt darstellen, sind im gleichen Sinne zu deuten. Krempien *et al.* (1972) haben in diesem Zusammenhang zeigen können, daß bei der renalen Osteopathie der Anteil aktiver osteoider Säume, verglichen mit dem Gesamtosteoid gegenüber gesunden Kontrollen unverändert war.

Nach der Auffassung von Rasmussen (1968) sowie Mills und Bavetta (1969) ist der regenerierende und teilweise überstürzte Aufbau der Fasermatrix beim primären HPT als direkter Effekt des gesteigerten Parathormonspiegels anzusehen, der u. a. auch eine beschleunigte Reifung des Knochenkollagens bewirken soll. Da bei der renalen Osteopathie neben dem erhöhten Parathormonangebot als wesentliche Teilursache des gestörten Skeletstoffwechsels Acidose, Hyperphosphatämie und vor allem funktioneller Vitamin D Mangel hinzukommen (Avioli *et al.*, 1968; Nichols *et al.*, 1969), lag es nahe, auch morphologische Differenzen an den Spongiosabälkchen beim primären und sekundären HPT zu erwarten.

Das hat sich nur insoweit bestätigt, als die aktiven osteoiden Säume an den Trabekeln bei renaler Osteopathie häufiger und ausgedehnter vorkommen als

beim primären HPT. Atypisches Faserosteoid und Faserknochenbildung sind beim primären und sekundären HPT hingegen gleich stark ausgeprägt. In Übereinstimmung mit Krempien *et al.* (1972) fanden sich keine morphologischen Differenzen zwischen der Spongiosa dialysierter und nicht dialysierter Individuen.

Zu den von Jones und Boyde (1970) dargestellten Beobachtungen unter den Bedingungen experimenteller Parathormonverabreichung im Tierversuch stehen die eigenen Ergebnisse in gewissem Widerspruch. Schon nach einer Einzeldosis von 100 E (Lilly) bzw. mehrfacher Applikation der gleichen Dosis über 3 Tage fand Jones (1973) eine hochgradige Zunahme ruhender Flächen am os parietale der Ratte. Schon 3 Std nach einmaliger Hormongabe zeigte sich eine Abnahme im Aufbau befindlicher zu Gunsten ruhender Oberflächen. Die osteoklastische Resorption war vor allem im Bereich der Gefäßkanäle gesteigert. Boyde (1972) betont, diese Befunde seien nur an der Außenfläche des os parietale, nicht aber dem Endokranium oder anderen Knochen der gleichen Tiere sicher reproduzierbar gewesen.

Eine derartige Vermehrung ruhender Oberflächen unter den Bedingungen des chronischen primären oder sekundären HPT hat sich an der menschlichen Wirbelspongiosa nicht bestätigen lassen. Allerdings sind die Versuchsbedingungen von Jones und Boyde (1970) den Voraussetzungen des menschlichen HPT wenig ähnlich. Für den renalen, sekundären HPT zeigten Krempien *et al.* (1972), daß die Zahl aktiver Howshipscher Lacunen und die Osteoidmenge dem Parathormonspiegel des Blutes proportional sind. Am gesunden Versuchstier demonstrierte hingegen Eger (1956), daß unter Parathormonverabreichung im Langzeitversuch keine beliebige Progredienz der Skeletveränderungen erreichbar ist, vielmehr setzen eine Art Gegenregulation und Resistenzentwicklung ein, die immer höhere Dosierungen erfordern, um einmal entstandene parathormonspezifische Knochenveränderungen aufrechtzuerhalten. Diese Beobachtungen schränken die Vergleichbarkeit des menschlichen HPT mit Kurzzeitexperimenten am Tier erheblich ein.

Die statistische Analyse kompakten reifen Lamellenknochens beim primären und sekundären HPT hat ergeben, daß die mittlere Fläche einer Osteocyt-lacune größer ist als in der Compacta gleicher Herkunft normaler Personen. Die geringen, aber statistisch signifikanten Unterschiede sind beim Vergleich der normalen Compacta mit der des sekundären HPT am deutlichsten. Die Differenzen sind weit kleiner, als die in der Literatur angegebenen Werte, die sich auf lichtmikroskopische Messungen stützen (Little, 1963; Belanger, 1969; Meunier *et al.*, 1971). Insgesamt bedarf dieses statistische Ergebnis einer zurückhaltenden Bewertung und der Überprüfung an einem umfangreicheren Material.

Die ermittelten Lacunengrößen der einzelnen Kollektive (vgl. Tabelle 1) sagen nichts über den dynamischen Vorgang einer Größenzunahme oder Größenabnahme. Größere Lacunen beim primären oder sekundären HPT sind daher auch kein Beweis für eine osteocytäre Osteolyse im Sinn von Jande und Belanger (1971).

Übereinstimmend mit Boyde und Hobdell (1969) kann man davon ausgehen, daß es 2 Arten von Osteocyt-lacunen gibt, die mit dem Rasterelektronenmikroskop gut voneinander unterscheidbar sind: Solche, die sich noch im Aufbau befinden und die eine deutliche Fasertextur ihrer Wand zeigen sowie andere, ältere Lacunen, die an der Innenseite eine ca. 1 μ breite, nicht faserbildende Matrixscheide haben. Diese Matrixscheide erreicht im gesunden lamellären

Knochen als Ausdruck der Reifung einen hohen Mineralisationsgrad (Mjör, 1962). Wenn die Mineralisation der lacunären Matrix aber zum Beispiel im Rahmen eines primären oder sekundären HPT ausbleibt, dann kann das eine osteocytäre Osteolyse vortäuschen, weil der Lacunenwand nicht anzusehen ist, ob sie aktiv demineralisiert worden ist oder ob primär schon gar keine Mineralisation vorhanden war.

Die geringen, aber statistisch signifikanten Größendifferenzen zwischen den Lacunen der normalen Erwachsenencompacta und der Compacta beim Hyperparathyreoidismus lassen sich hinreichend durch Ausbleiben der Kalksalzeinlagerung in die an Zwischensubstanzen reiche ca. 1 μ breite Matrixscheide der Osteocytenhöhlen erklären.

Eine rasterelektronenmikroskopische Strukturanalyse der Wirbelspongiosa beim primären und sekundären HPT bestätigt die erwartete hochgradige lacunäre Osteoklasie. — Kompensatorisch ist aber eine lebhaftete Anbauaktivität zu beobachten, die mit Mineralisation der neugebildeten Matrix und dem Auftreten ausgedehnter, aktiver osteoider Säume einhergeht. — Der aktive Aufbau neuen Faserosteoids ist beim sekundären (renalen) HPT intensiver als beim primären HPT. Die Spongiosabälkchen dialysierter und nicht dialysierter Individuen zeigen keine morphologischen Unterschiede.

Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu rasterelektronenmikroskopischen Ergebnissen von Jones und Boyde (1970), die im Tierversuch unter Parathormonverabreichung eine starke Zunahme ruhender, inaktiver Oberflächen gesehen haben; allerdings erscheint ein Vergleich dieser Ergebnisse eines Kurzzeitversuches mit denen des menschlichen HPT wenig sinnvoll.

Die Osteocytenlacunen in der reifen Corticalis der Tibia erweisen sich beim primären und sekundären HPT als gegenüber der Norm signifikant vergrößert. Dieser Befund wird nicht als morphologisches Substrat einer aktiven osteocytären Osteolyse gedeutet, sondern als Ausdruck einer Reifungsstörung im Rahmen des HPT, die sich durch Ausbleiben der Kalksalzeinlagerung in die periosteocytäre Matrix äußert.

Literatur

- Avioli, L. V., Birge, S., Won Lee, S., Slatopolsky, E.: The metabolic fate of vitamin D₃-³H in chronic renal failure. *J. Clin. Invest.* **47**, 2239—2252 (1968).
- Baud, C. A.: The fine structure of the osteocytes in the adult compact bone. In: *Electron microscopy*, vol. 2. New York: Acad. Press 1962.
- Baud, C. A.: Structure et fonctions des osteocytes sous l'influence de l'extrait parathyroïdien. *Schweiz. med. Wschr.* **98**, 717—720 (1968).
- Belanger, L. F.: Osteocytic osteolysis. *Calcif. Tiss. Res.* **4**, 1—12 (1969).
- Boyde, A.: Scanning electron microscope studies of bone. In: G. H. Bourne, *The biochemistry and physiology of bone*, vol. 1. New York: Acad. Press 1972.
- Boyde, A., Hobdell, M. H.: Scanning electron microscopy of lamellar bone. *Z. Zellforsch.* **93**, 213—231 (1969).
- Cameron, D. A.: The fine structure of bone and calcified cartilage. *Clin. Orthop.* **26**, 199—228 (1969).
- Duursma, S. A., Visser, W. J., Njio, L. A.: A quantitative histological study of bone in 30 patients with renal insufficiency. *Calcif. Tiss. Res.* **9**, 216—225 (1972).
- Eger, W.: Der experimentelle Hyperparathyreoidismus. *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* **62**, 403—423 (1956).
- Heuck, F.: Investigations of the mineral content of the osteocyte halos. *Calcif. Tiss. Res.* **2**, Suppl. 81—82 (1968).

- Jande, S.S., Belanger, L.F.: Electron microscopy of osteocytes and the pericellular matrix in the rat trabecular bone. *Calcif. Tiss. Res.* **6**, 280—289 (1971).
- Jones, S.J.: Persönliche Mitteilung, 1973.
- Jones, S.J., Boyde, A.: Experimental studies on the interpretation of bone surfaces studied with SEM. *Proc. Anns. SEM Symp.* **3**, 193—200 (1970).
- Krempien, B., Ritz, E., Beck, U., Keilbach, H.: Osteopathy in Maintenance hemodialysis. *Virchows Arch. Abt. A.* **357**, 257—274 (1972).
- Leriche, R., Policard, A.: The normal and pathological physiology of bone. St. Louis: J. V. Mosby 1928.
- Lilliefors, H.W.: On the Kolmogoroff — Smirnow test for normality with mean and variance unknown. *J. Amer. Statistic. Ass.* **62**, 399—402 (1967).
- Lindenfelser, R., Krönert, W., Orth, H.: Strukturen der Knochenspongiosa. *Virchows Arch. Abt. B.* **5**, 201—208 (1970).
- Lindenfelser, R., Schoenmackers, J., Haubert, P., Krönert, W.: Der spongiöse Knochen beim primären Hyperparathyreoidismus. *Virchows Arch. Abt. B.* **9**, 333—342 (1971).
- Little, K.: Bone resorption and osteoporosis. *Lancet* **1963 II**, 752—756.
- Margel, D.R.: Rapid preparation of thick sections of plastic embedded undecalcified bone for microscopic examination with reflected light. *J. Anat. (Lond.)* **108**, 311—314 (1971).
- Meunier, P., Bernard, J., Vignon, G.: The measurement of periosteocytic enlargement in primary and secondary hyperparathyreoidism. *Israel J. med. Sci.* **7**, 482—485 (1971).
- Mills, B.G., Bavetta, L.A.: Effect of parathreoid extract on bone collagen fractions. *Clin. Orthop.* **62**, 240—249 (1969).
- Mjör, I.A.: The bone matrix adjacent to lacunae and canaliculi. *Anat. Rec.* **144**, 327—339 (1962).
- Nichols, G., Flanagan, B., Sluys-Veer, J. van der: Distorsions of bone cell metabolism in uremia and their cause. *Arch. intern. Med.* **124**, 530—538 (1969).
- Rasmussen, H.: The parathyroids. In: R.H. Williams, *Textbook of endocrinology*. Philadelphia-London-Toronto: Saunders Co. 1968.
- Recklinghausen, F. von: Untersuchungen über Rachitis und Osteomalazie. Jena: Gustav Fischer 1910.
- Remagen, W., Caesar, R., Heuck, F.: Elektronenmikroskopische und mikroradiographische Befunde am Knochen der mit Dihydrotachysterin behandelten Ratte. *Virchows Arch. Abt. A* **345**, 245—254 (1968).
- Rowland, G.H., Capen, C.C., Black, H.E., Young, D.M.: Microradiographic evaluation of bone and ultrastructure of C-cells and Parathyroid glands of cows receiving parathyroid extract. *Beitr. path. Anat.* **144**, 360—376 (1971).
- Rutishauser, E.: Kreislaufstörungen im Knochensystem. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **47**, 91—112 (1963).
- Simpson, G.G., Roe, A., Lewontin, R.C.: *Quantitative zoology*. New York: Harcourt, Brace and World Inc. 1960.
- Swedlow, D.B., Harper, R.A., Katz, J.L.: Evaluation of a new preparative technique for bone examination in the SEM. *Proc. Ann. SEM Symp.* **5**, 335—342 (1972).
- Uehlinger, E.: Pathogenese des primären und sekundären Hyperparathyreoidismus und der renalen Osteomalazie. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **62**, 368—403 (1956).
- Vitali, H.P.: Phasenkontrast- und fluoreszenzoptische Untersuchungen zur Funktion der Osteozyten. *Virchows Arch. path. Anat.* **341**, 24—36 (1966).

Dr. R. Lindenfelser
Abteilung Pathologie der
Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule
D-5100 Aachen, Goethestr. 27/29
Bundesrepublik Deutschland