

(Aus der Chir. Universitätsklinik Freiburg i. Br. [Prof. Dr. E. Rehn].)

Experimentelle Untersuchungen über Beeinflussung der Knochenregeneration durch Vitamin C.

Von

Dr. Hans Hanke,
Assistent der Klinik.

Mit 4 Textabbildungen (32 Einzelbildern).

(Eingegangen am 28. VI. 1935.)

Das Bemühen, den Organismus bei der Regeneration des Knochengewebes durch Zufuhr bestimmter fördernder Mittel zu unterstützen, ist ein altes. Fast unübersehbar groß ist die Zahl der Mittel, die hier angewandt wurden. Außerordentlich zahlreich sind auch die Versuche, die an Tieren unternommen wurden, um eine Beeinflussung des Knochenwachstums durch dies oder jenes Mittel nachzuweisen. Die große Zahl derartiger Untersuchungen am Menschen und am Versuchstier zeigen zweierlei: einmal, daß ein Bedürfnis nach solchen die Regeneration steigenden Mitteln besteht und zweitens, daß bisher ein ideales Mittel noch nicht gefunden wurde.

Das Verlangen, die Natur bei der Heilung von Knochenwunden zu unterstützen, ist ja verständlich angesichts der Tatsache, daß es in einem gar nicht geringen Hundertsatz zu verzögerten Konsolidationen, oft über lange Zeit hinaus, kommt, gelegentlich sogar zu echten Pseudarthrosen selbst bei anatomisch einwandfreien und befriedigenden Stellungen der Bruchenden. Daß derartige Störungen im Aufbau neuen Knochengewebes überhaupt vorkommen, beweist, daß die harmonische Zusammenarbeit im Organismus auch beim sonst gesunden Menschen nicht immer besteht, daß sie irgendwie und irgendwo gestört sein kann. Es ist uns vorläufig in vielen Fällen noch gar nicht möglich, die Ursachen derartiger Störungen im einzelnen klarzustellen. Man hat die verschiedensten Gründe hierfür angegeben und versucht, sie irgendwie auszuschalten; durch chirurgische Maßnahmen, durch Stauung, durch Injektion verschiedenster Mittel in oder um die Bruchstelle usw. Besonders *Burckhardt*, um nur einen Namen aus der letzten Zeit zu nennen, hat sich in sehr exakten Beiträgen um die Klarstellung der Wirkung lokaler Maßnahmen bemüht. Der andere Weg eine Förderung der Knochenheilung zu erreichen war der, den Organismus im allgemeinen zu beeinflussen. Die verschiedensten Substanzen, insbesondere natürlich Salze, wie Kalk, Phosphor und andere Bestandteile des Knochengewebes wurden verabreicht; Hormone und Vitamine wurden gegeben.

Bei allen diesen Mitteln wurde zwar hin und wieder Günstiges gesehen. Es ist das auch verständlich, wenn man sich auf den im Einzelfall allerdings kaum zu beweisenden Standpunkt stellt, daß eben dieser oder jener Faktor dem Organismus gelegentlich nicht in ausreichendem Maße zur Verfügung steht. Eine in allen Fällen günstige Wirkung wurde durch kein Mittel erreicht. Wir dürfen das auch nicht erwarten, eben weil sicher eine Mehrheit regenerationsbeeinflussender Faktoren vorhanden ist.

In den letzten Jahrzehnten ist neben den Hormonen die Bedeutung der *Vitamine* für die Gestaltung eines harmonischen Wachstums des Organismus und seiner Einzelgewebe in immer höherem Maße erkannt worden. Bei Mangelkrankheiten und sogenannten hypovitaminotischen Zuständen liegt der Wert eines Ersatzes der in Betracht kommenden Vitamine auf der Hand. Seit der in den letzten Jahren verwirklichten Reindarstellung der wichtigsten Vitamine ist man in der Lage, eine wahrhaft kausale Therapie zu treiben. Allerdings fehlen uns noch ganz oder doch zum großen Teil verlässliche Proben, die uns die klinisch nicht so recht faßbaren hypovitaminotischen Zustände anzeigen könnten.

Vor allem war es das Vigantol, das in den letzten Jahren hinsichtlich seiner Möglichkeit, die Knochenregeneration zu beeinflussen, untersucht wurde. Es kann auf diese zahlreichen Versuche hier nur verwiesen werden. Da das bestrahlte Ergosterin den rachitischen Knochen heilt, vermutete man, daß es auch die Kalkablagerung bei Frakturen unterstütze. Entgegen Autoren, die einen fördernden Einfluß des Vitamin D auf die Knochenregeneration glaubten feststellen zu können, wiesen u. a. *Hellmer*, *Vara-Lopez* und *Swart* auf die Wirkungslosigkeit einer besonderen Vitamin D-Zufuhr hin. Auch das klinisch gern gegebene Präparat Pro Ossa, das neben Vitamin D noch Ca und P enthält, erwies sich *Boeminghaus* in experimentellen Versuchen als gänzlich wirkungslos. Bei den ebenfalls mit Pro Ossa unternommenen Versuchen von *Felix*, *Synodinos* und *Jasdi-Sadeh* konnte bei dem u. E. wichtigsten „Geschwistervergleich“ in nur etwa einem Drittel eine beschleunigte Regeneration festgestellt werden.

Den „Selbstvergleich“, dessen Ergebnis *Felix* und seine Mitarbeiter als besonders zuverlässig bezeichnen, vermögen wir nicht in dem Maße zu werten. Leider fehlen bei *Felix* jegliche Angaben über das Alter der Tiere. Nach *Burckhardt* ist der Verlauf der Regeneration, je nachdem ob man jüngere oder ältere Tiere nimmt, ein „ganz anderer“. Die Regeneration erfolgt nur bei Tieren eines und desselben Wurfes ganz gleichförmig (*Boeminghaus*). Prüft man, wie *Felix*, an ein und demselben Tier zeitlich hintereinander, so kommen außer dem Alter noch weitere Fehlerquellen in die Versuche hinein, verschiedene Jahreszeit, u. U. dementsprechend auch verschiedene Ernährung.

Im Gegensatz zum Vitamin D (Vigantol) sind nun betreffs der die Knochenregeneration fördernden Wirkung eines anderen Vitamins, des

antiskorbutischen, wasserlöslichen C-Vitamins, nur wenige Untersuchungsergebnisse vorhanden. Allerdings ist uns über die Beeinflussung des Knochengewebes durch den Skorbut eine Beobachtung von *Sir Asthley Cooper* aus der Zeit vor 100 Jahren überliefert.

Bei einer Expedition litt die Schiffsmannschaft während der Fahrt um Kap Horn schwer an Skorbut. Es traten Ulcerationen an Stellen auf, die früher Geschwüre gezeigt hatten, und „die früher gebrochenen Knochen trennten sich wieder voneinander“. Die Knochen vereinigten sich erst wieder, als frische Vegetabilien auf dem Lande genossen wurden; jetzt heilten auch die Geschwüre ab. — Ähnliche Beobachtungen bei Skorbutkranken machte *Lobmeyer* im Weltkrieg in der Türkei (nach *Israel* und *Fränkel*). — Auf Anregung *Biers*, der auf die Beobachtung von *Sir Asthley Cooper* gestoßen war, unternahmen 1925 *Israel* und *Fränkel* Versuche an C-avitaminotisch gemachten Meerschweinchen. Sie fanden, daß bei diesen Tieren die Knochenbruchheilung verzögert, ja verhindert werden konnte. Bei einem ebenfalls skorbutkranken Meerschweinchen trat erst nach Ernährung mit Mohrrüben und Zitronensaft die Heilung durch Callusbildung ein. *Israel* und *Fränkel* wiesen auch auf Versuche von *Watanabe* an Schädeln skorbutischer Meerschweinchen und Ratten hin, bei denen die Heilung verzögert oder aufgehoben war. — *Schilowzew* stellte an C-avitaminotischen Meerschweinchen fest, daß jeder Knochenbruch regelmäßig zur Pseudarthrose führte.

Diese Beobachtungen und Versuche weisen eindeutig auf die überaus wichtige Rolle eines genügenden C-Vitamindepots im Organismus für die Knochenregeneration hin. Wird nun aber auch bei normal ernährten Menschen und Versuchstieren durch zusätzliche Gaben von C-Vitamin die Regeneration des Knochengewebes befördert?

Zu dieser Frage liegen Versuche von *v. Halász* und *Marx* vor. Sie konnten bei normal ernährten Meerschweinchen durch zusätzliche C-vitaminreiche Nahrung und durch Zitronensaft keine Förderung der Callusbildung weder röntgenologisch noch histologisch feststellen.

Leider sind diese Versuche wie auch so viele andere nicht recht zu werten, da sie an experimentellen Frakturen angestellt sind. Experimentelle Frakturen sind aber, wie *Burckhardt* mit vollem Recht sagt, „das ungeeignetste Objekt, den Erfolg eines Mittels zu studieren.“

Alle erwähnten Versuche waren mit C-vitaminreichen Nahrungsmitteln ausgeführt worden. Bekanntlich findet sich dieses besonders in frischen Gemüsen (Salat, Spinat, Weißkohl) und in frischen Früchten (Citronen, Apfelsinen, Tomaten und Paprika). Erst in allerneuester Zeit ist es *Szent-Györgyi* gelungen, das C-Vitamin rein darzustellen.

Mit letzterem wurden von *v. Jenev* und *v. Korpássy* an skorbutkranken Meerschweinchen Versuche unternommen. Während ohne Vitamin C die Regeneration des Binde- und Knochengewebes schwer gestört war, verlief sie bei Gaben von Vitamin C der Norm vollkommen ähnlich. Die Versuche waren an Weichteilwunden im Bereich des Kopfes und an (mit der Säge hergestellten) Knochenwunden des Schädels ausgeführt worden. Die Heilung der Haut- und Knochenwunden normal ernährter Tiere wurde durch zusätzliche Behandlung mit Vitamin C nicht wesentlich beeinflusst.

II.

Als die Untersuchungen dieser ungarischen Autoren veröffentlicht wurden, waren wir bereits mit eigenen Versuchen beschäftigt, die ebenfalls den Einfluß des reinen Vitamin C auf die Knochenregeneration zum Ziel hatten, jedoch auf Grund der sehr exakten Methode, die vor allem *Burckhardt* ausgearbeitet hat, nämlich der experimentell gesetzten Knochenlücke eines Unterarmknochens. Wir haben in allem die Bedingungen eingehalten, die *Burckhardt* für derartige Untersuchungen mit Recht gefordert hat und auf die hier ausdrücklich hingewiesen sei: Kontrollversuche an Tieren des gleichen Wurfes, möglichst gleichmäßiges Alter der Versuchstiere (am besten eignen sich Tiere im Alter von 8—16 Wochen), möglichst gleichmäßige Technik. Es ist klar, daß besonders Verschiedenheiten der letzteren sich weitgehend auf die Heilung der Knochenlücke auswirken müssen. Deswegen ist man ja gerade von der Methode der experimentellen Fraktur abgekommen. Größtmögliche Schonung des Periosts, der Muskulatur, der Gefäße usw. ist zu fordern.

Im einzelnen ist zu sagen, daß wir an Kaninchen und Meerschweinchen gearbeitet haben. Es wurde in Äthernarkose ein etwa dem doppelten Durchmesser des Knochens entsprechendes Stück subperiostal reseziert. Als eine für die schonende Resektion dieser zarten Knochen, die ja nicht splintern dürfen, recht brauchbares Instrument erwies sich uns die Laubsäge. Die Muskeln wurden über der etwa in der Mitte des Knochens angelegten Knochenlücke durch 2 Catgutknopfnähte vereinigt. Die Hautmanschette wurde oberhalb des Handgelenkes durch Seidenknopfnähte mit der übrigen Haut vereinigt. Die Tiere überstanden den Eingriff ohne irgendwelche Anzeichen gut.

Die C-vitaminfrei ernährten Tiere erhielten Heu, Hafer bzw. Haferflocken und neben Wasser autoklavierte Milch. Die Tagesmenge Cebion, die die Kaninchen erhielten, betrug 12,5 mg; die Meerschweinchen erhielten 2,5—5 mg¹. Da die wirksame Tagesdosis der Ascorbinsäure beim Meerschweinchen $\frac{1}{2}$ —1 mg beträgt, sind diese Dosen als durchaus ausreichend zu bezeichnen. Wir gaben sie subcutan, um eine sichere Zuführung gewährleistet zu haben. Die normal ernährten Tiere bekamen außer Heu, Rüben, Mohrrüben und dergleichen.

Wir teilen nun in Kürze die Protokolle unserer Versuche mit. Da die Regeneration nur bei Geschwistertieren einen gleichmäßigen Verlauf aufweist, vergleichen wir nur Tiere eines Wurfes miteinander. In Abständen von etwa 10 Tagen wurden regelmäßige Röntgenkontrollen vorgenommen. Sämtliche Röntgenbilder wurden nach Beendigung aller Versuche unserem Röntgenologen, Doz. Dr. v. *Pannewitz*, zur Beurteilung vorgelegt. Erst nach erfolgter Beurteilung wurde über die Versuchsanordnung berichtet. Die im folgenden mitgeteilten Ergebnisse gründen sich also auf objektivstes Urteil.

Wir haben zuerst an Kaninchen gearbeitet. Kaninchen vermögen, wie manche anderen Tiere, das C-Vitamin in ihrer Leber selbst zu bilden;

¹ Die erforderlichen Cebionmengen wurden uns dankenswerterweise von der Fa. *Merck*, Darmstadt, zur Verfügung gestellt.

sie sind also nicht durch C-vitaminfreie Kost ganz avitaminotisch zu machen. Das Meerschweinchen vermag dies, wie der Mensch, nicht. Es ist darum das eigentliche biologische Testobjekt für die C-Avitaminose.

a) *Versuche an Kaninchen.*

1. *Versuchsreihe.* 3 Kaninchen aus gleichem Wurf, etwa 4 Mon. alt. Gewicht 1600—1725 g. Tier 411 Kontrolle, Tier 410 normale Kost + tgl. Cebion, Tier 409 C-vitaminfreie Kost + tgl. Cebion. Resektion der Ulna. Bei Beginn unserer Versuche war die Technik noch nicht ganz gleichmäßig, Tier 410 wies einen kleinen, vom oberen Fragment her in die Knochenlücke reichenden Sporn auf. Schon am

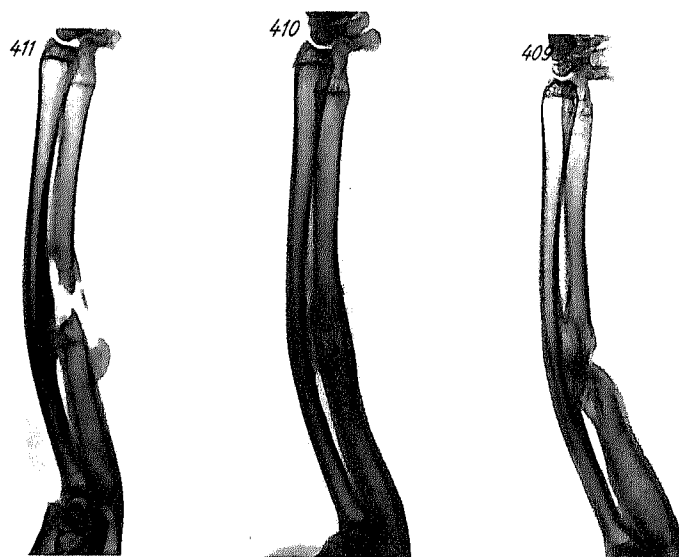


Abb. 1. Am 70. postop. T. 411 Kontrolle, 410 normale Kost + Cebion, 409 C-vitaminfreie Kost + Cebion.

30. T. war die Knochenlücke bei diesem Tier fast vollkommen geschlossen, während die Regeneration bei den beiden anderen Tieren noch weit zurück war. Wegen der nicht ganz vollkommenen Resektion können wir das Tier aber nicht vergleichend werten. Abb. 1 zeigt die Callusbildung am 70. T. Das Ergebnis bei Tier 410 zeigen wir nur der Vollständigkeit halber. Zu werten sind Tier 409 und 411. Es ist offensichtlich, daß die Knochenneubildung bei dem C-vitaminfrei ernährten Tier, das aber Cebion bekam, gegenüber dem Kontrolltier beschleunigt ist. Zu bemerken ist noch, daß das Tier 409 trotz seiner C-vitaminfreien Kost (allerdings mit Cebion) am 53. T. 5 gesunde Junge warf. Die Endgewichte der Tiere waren nicht wesentlich voneinander verschieden.

Man darf bei dieser Versuchsreihe wohl eine deutliche Beschleunigung der Knochenbildung durch Vitamin C annehmen.

2. *Versuchsreihe.* 3 Kaninchen aus gleichem Wurf, etwa 4 Mon. alt. Gewicht 1650—1750 g. Tier 413 Kontrolle, Tier 412 normale Kost + tgl. Cebion, Tier 414

C-vitaminfreie Kost + tgl. Cebion. Resektion der Ulna. Am 20. T. wies Tier 414 den stärksten periostalen Callus auf, Tier 413 (Kontrolle) den geringsten. Am 30. T. sind 414 und 412 gleich stark in der Callusbildung vorgeschritten, Tier 413 etwas zurück. Am 40. T. überall im wesentlichen gleicher Befund, Lücke geschlossen. Am 50. und 60. T. erscheint bei Tier 413 (Kontrolle) die Verknöcherung am breitesten. Am 70. T. im wesentlichen überall gleicher Befund.

Aus dieser Versuchsreihe geht eine in den ersten 30 T. beschleunigte Knochenneubildung bei den Tieren, die Vitamin C erhielten, hervor. In der endgültigen Ausheilung kein Unterschied der Cebiontiere zu dem Kontrolltier.

3. *Versuchsreihe.* 2 Kaninchen aus gleichem Wurf, 9 W. alt. Gewicht bei Tier 684 (Kontrolle) 1330 g, bei Tier 685 (C-vitaminfreie Kost ohne Cebion) 1160 g. Resektion des Radius. Nach 60 T. bei 684 1638 g, bei 685 2260 g. Eine Erklärung dieser auffallenden Gewichtsunterschiede war uns nicht möglich. Die Knochenregeneration verlief bei beiden Tieren kaum unterschiedlich.

Bei einem C-vitaminfrei ernährten Kaninchen verlief die Knochenregeneration in derselben Stärke und Schnelligkeit wie bei dem Kontrolltier.

4. *Versuchsreihe.* 3 Kaninchen aus gleichem Wurf, etwa 10 W. alt. Tier 686 Kontrolle, 688 normale Kost + tgl. Cebion, 687 C-vitaminfreie Kost + tgl. Cebion. Resektion des Radius. Die Tiere 686 und 688 gingen im Verlauf des Versuches an einer Stallinfektion ein. Am 21. T. war die Knochenregeneration bei Tier 688 am besten, es folgte die Kontrolle 686, nach dieser 687. Allerdings sind die Unterschiede nur gering. Am 30. T. war bei Tier 686 und 687 die Heilung vollkommen und ziemlich gleich gut (688 war bereits tot).

Nach 20 T. war die Knochenregeneration am besten bei normaler Kost + tgl. Cebion. Jedoch nur geringe Unterschiede.

5. *Versuchsreihe.* 3 Kaninchen aus gleichem Wurf, etwa 14 W. alt. Gewicht 1480—1750 g. Tier 691 Kontrolle. Tier 692 normale Kost + tgl. Cebion. Tier 689 C-vitaminfreie Kost ohne Cebion. Resektion des Radius. Am 20. T. wies das nur C-vitaminfrei ernährte Tier 689 die beste Regeneration auf (die Knochenlücke war hier allerdings etwas kleiner ausgefallen als bei den anderen Tieren). Am 30. T. war die Knochenlücke bei allen Tieren überbrückt, die Regeneration bei 689 am besten, es folgten 692 und dann 691. Die Regeneration verlief weiter in der gleichen Reihenfolge, mit nur geringen Unterschieden. Sie war am 50. T. gleich. Eigentümlicherweise hatte das Tier 689 ein Endgewicht von 2730 g gegenüber anfangs 1480, während die beiden anderen Tiere nur kaum zugenommen hatten.

Die anfängliche Knochenneubildung verlief am schnellsten bei dem C-vitaminfrei ernährten Tier, das auch am stärksten an Gewicht zunahm. Es folgte das normal ernährte Tier + Cebion, relativ am langsamsten verlief die Regeneration bei dem Kontrolltier. Am 50. T. keine Unterschiede mehr.

6. *Versuchsreihe.* 4 Kaninchen aus gleichem Wurf, etwa 12 W. alt. Gewicht 1300—1530 g. Tier 311 Kontrolle, die übrigen drei Tiere 310, 312 und 313 erhielten neben normaler Kost tgl. Cebion. Resektion des Radius. Es sei aus dieser Serie der zeitliche Ablauf der Regeneration an Abbildungen erläutert. Abb. 2a nach 10 T. Regeneration ziemlich gleich. Abb. 2b nach 22 T.: Reihenfolge 312, 313, 310, die Kontrolle 311 am weitesten zurück. Abb. 2c am 30. T.: 312, 313 und 310 etwa gleich weit, die Kontrolle noch deutlich zurück. Nach 40 T.: 311 ist noch nicht ganz so weit wie die anderen Tiere verheilt. Erst nach 50 T. ist auch bei der Kontrolle der gleiche Befund vorhanden.

Aus dieser Serie tritt sehr klar eine Beschleunigung der Callusbildung durch zusätzliche Gaben von Vitamin C bei normal ernährten Tieren gegenüber der Kontrolle hervor.

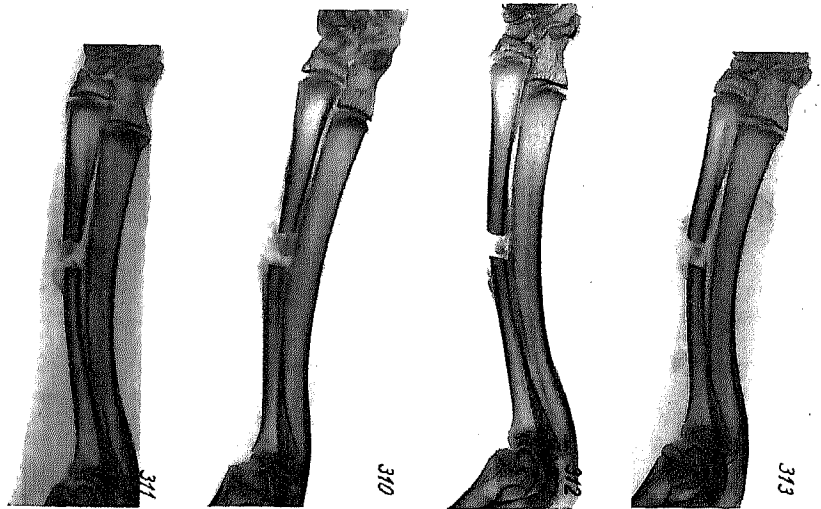


Abb. 2a. Am 10. postop. T. 311 Kontrolle. 310, 312, 313 normale Kost + Cebion.

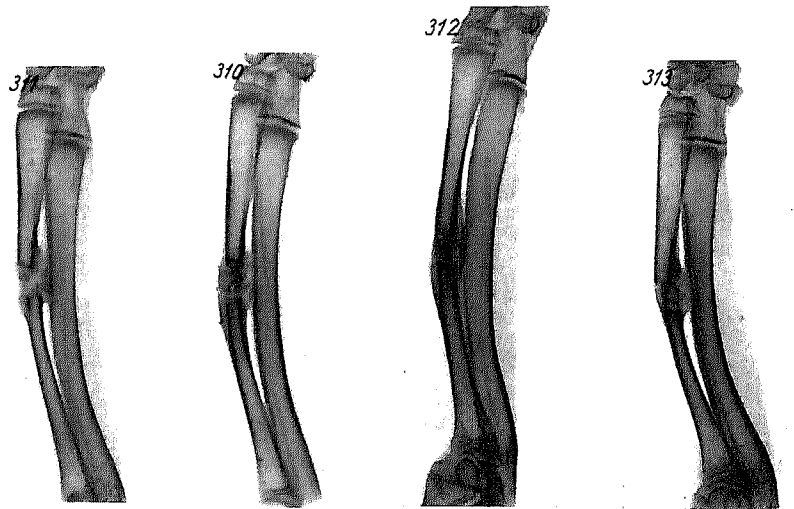


Abb. 2b. Am 20. postop. T.

7. *Versuchsreihe*. 2 Kaninchen aus gleichem Wurf, etwa 14 W. alt. Gewicht des Kontrolltieres 314 1620 g, das des normal mit tgl. Cebion ernährten Tieres 315 1690 g. Resektion des Radius. Abb. 3a nach 10 T.: 315 ist gegenüber der Kontrolle 314 deutlich voraus. Abb. 3b nach 21 T.: während bei 315 die Knochenlücke schon durch Callus überbrückt ist, ist die Kontrolle 314 weit zurück. Abb. 3c: auch nach



Abb. 2c. Am 30. postop. T.

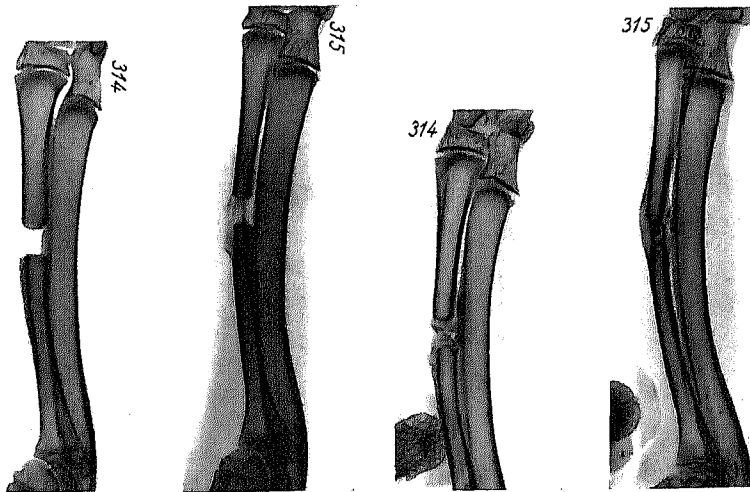


Abb. 3a. Am 10. postop. T. 314 Kontrolle,
315 normale Kost + Cebion.

Abb. 3b. Am 21. postop. T.

30 T. ist die Kontrolle noch zurück. Abb. 3d: nach 41 T. ist bei der Kontrolle der Callus immer noch gegenüber 315 zurück. Erst nach 50 T. (Abb. 3e) etwa gleicher Befund. Endgewichte kaum unterschiedlich, bei 314 1732 g, bei 315 1772 g.

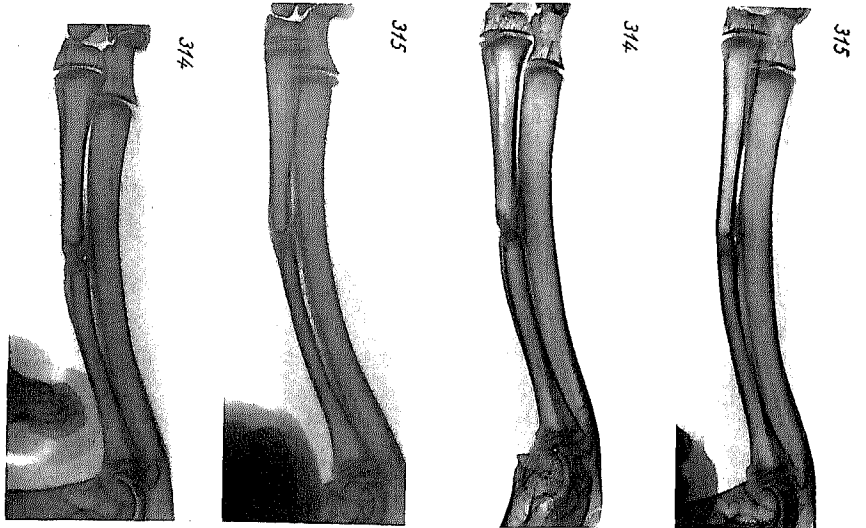


Abb. 3c. Am 30. postop. T.

Abb. 3d. Am 41. postop. T.

Auch aus dieser Serie tritt klar eine Beschleunigung der Callusbildung durch zusätzliche Gaben von Vitamin C zu normaler Kost hervor.

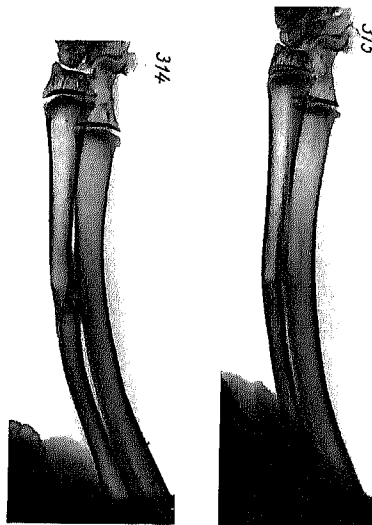


Abb. 3e. Am 50. postop. T.

8. *Versuchsreihe.* 2 Kaninchen aus gleichem Wurf, etwa 12 W. alt. Gewicht 980 bis 1110 g. Resektion des Radius. Tier 317 ging am 28. T. ein. Der Versuch sei nur der Vollständigkeit halber mitgeteilt. Wir können auf ihn nicht viel Wert legen, da die Knochenlücke bei dem Kontrolltier 316 um $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ kleiner war als die des Tieres 317, das neben normaler Kost Cebion erhielt. Nach 20 T.: der Callus ist bei Tier 316 weit vorgeschrittener als bei Tier 317, aber eben die Lücke ist auch kleiner.

Versuch nur bedingt wertbar. Bei der Kontrolle schnelleres Fortschreiten der Callusentwicklung, aber bei ihr auch kleinere Knochenlücke.

b) *Versuche an Meerschweinchen.*

Bevor wir die Ergebnisse unserer Kaninchenversuche erörtern, mögen unsere gleichsinnigen Versuche an Meerschweinchen mitgeteilt werden.

9. (1.) *Versuchsreihe.* 4 Meerschweinchen aus gleichem Wurf, 9 W. alt. Gewicht 200—240 g. Tier 61 Kontrolle, Tier 62 normale Kost + tgl. Cebion (Dosierung

s. o.), Tier 63 C-vitaminfreie Kost ohne Cebion, Tier 64 C-vitaminfreie Kost + Cebion. Resektion des Radius. Während die Wundheilung bei den Tieren 61 und 64 glatt, bei 62 unter Abstoßung der 2. Zehe, aber sonst auch glatt vor sich ging, war bei Tier 63 (C-vitaminfrei) eine Schwellung der operierten Extremität, Sekretion aus der Wunde, Abstoßung einer Zehe zu bemerken, erst am Schluß Wundheilung, aber Wundgegend weiter geschwollen. Allgemeinbefinden bald verschlechtert, Fell wird struppig, Gewichtsverlust. Nach 41 T. tot. 25. T.: Tier 61, die Kontrolle, ist am weitesten, danach folgt Tier 64, während 63, das C-vitaminfreie Tier, und eigenartigerweise auch Tier 62 nur Spuren von Callus aufweisen. Am 40. T. sind Tier 61 und 64 verheilt. Auch am 70. T. ist bei Tier 62 die Knochenlücke noch nicht überbrückt. — Gewicht bei Tier 61 am Schluß 373 g (anfangs 200 g), bei Tier 62 330, anfangs 225 g, bei Tier 64 450, anfangs 240 g.

Das Kontrolltier ist in der Callusbildung am weitesten vorgeschritten (am 30. T. verheilt); es folgt das C-vitaminfrei ernährte Tier + Cebion (am 40. T. verheilt). Kaum Callusbildung bei normaler Kost + Cebion; das C-vitaminfreie Tier geht am 41. T. ein, kaum Callusbildung.

10. (2.) *Versuchsreihe*. 4 Meerschweinchen aus gleichem Wurf, 10 W. alt. Gewicht 190—225 g. Tier 65 Kontrolle, Tier 66 normale Kost + Cebion, Tier 67 C-vitaminfreie Kost ohne Cebion, Tier 68 C-vitaminfreie Kost + Cebion. Resektion des Radius. Während die Wundheilung bei 65 und 66 glatt ist (Abstoßung je zweier Zehen), bei 68 anfänglich Schwellung, seröse und schmierige Absonderung, Verlust einer Zehe, ist sie bei Tier 67 (C-vitaminfrei) schwer gestört: Wunde schmiert, stinkt. Gewichtsverlust, nach 27 T. tot. Bei diesem Tier 67 zeigte das Röntgenbild eine Abstoßung des größten Teils des proximalen Fragments. Die Knochenheilung verlief bei den Tieren ziemlich gleich. Vielleicht war sie bei Tier 65 (Kontrolle) am 70. T. eine Spur voraus. Endgewicht bei Tier 65 und 66 ziemlich gleich, bei Tier 68 stärkste Gewichtszunahme.

Im ganzen, mit Ausnahme des C-vitaminfrei ernährten Tieres, das mit großer Defektbildung des Knochens am 27. T. eingeht, gleich schnelle Knochenregeneration, die Kontrolle am 70. T. vielleicht eine Spur weiter.

11. (3) *Versuchsreihe*. 4 Meerschweinchen aus gleichem Wurf, 9 W. alt. Gewicht 190—235 g. Tier 72 Kontrolle, Tier 71 normale Kost + Cebion (am 25. T. von einem Hund tot gebissen), Tier 73 C-vitaminfreie Kost ohne Cebion, Tier 74 C-vitaminfreie Kost + Cebion. Resektion des Radius. Wundheilung bei Tier 72 und 74 p. p., auch bei Tier 71 (Abstoßung einer Zehe). Bei Tier 73 (C-vitaminfrei) Schwellung der Extremität, Wunde schmiert; Gewichtsverlust, Tier geht am 31. T. ein. — Während bei dem durch äußere Einflüsse leider getöteten Tier 71 (normale Kost + Cebion) die Heilung der Knochenlücke bereits am 25. T. weit vorgeschritten war, ist sie am 30. T. bei den anderen Tieren noch längst nicht so weit. Am 60. T. war die Knochenlücke bei Tier 74 (C-vitaminfrei + Cebion) gut verheilt, bei der Kontrolle, Tier 72, noch nicht. — Endgewicht bei Tier 72 (Kontrolle) 362 g, anfangs 220 g, bei Tier 74 (C-vitaminfrei + Cebion) anfangs 190, am Schluß 400 g.

Das C-vitaminfrei ernährte Tier geht nach 31 T. ein (anfänglich etwas Callus gebildet); bei weitem am vorgeschrittensten die Callusbildung bei dem normal ernährten Tier + Cebion, danach bei dem C-vitaminfrei ernährten + Cebion, die Kontrolle sehr zurück.

12. (4.) *Versuchsreihe*. 4 Meerschweinchen aus gleichem Wurf, 10 W. alt. Gewicht 220—300 g. Tier 75 Kontrolle, Tier 76 normale Kost + Cebion, Tier 78 C-vitaminfreie Kost ohne Cebion, Tier 77 C-vitaminfreie Kost + Cebion. Resektion des Radius. Wundheilung bei Tier 75 und 76 glatt, bei Tier 77 anfänglich Schwellung, bald gute Wundheilung. Bei dem Skorbuttier 78 war die Extremität geschwollen.

die Zehen stießen sich ab, die Wunde schmierte, Gewichtsverlust, geht am 50. T. ein. Am 30. T. ist die Callusbildung bei Tier 77 und 76 etwa gleich, bei dem ersteren vielleicht noch eine Spur stärker, Tier 75 (Kontrolle) und 78 (Skorbut) zeigen kaum Callus. Ähnlicher Befund 10 T. später. Am 50. T. (Abb. 4a) stärkste Callusbildung bei Tier 77, es folgt 76, dann erst die Kontrolle 75, am Schluß das Skorbuttier 78 ohne Callusbildung, mit Resorption der Fragmentenden. Am 70. T. (Abb. 4b) überall Überbrückung der Knochenlücke, jedoch bei den Cebiontieren stärkere Callusbildung

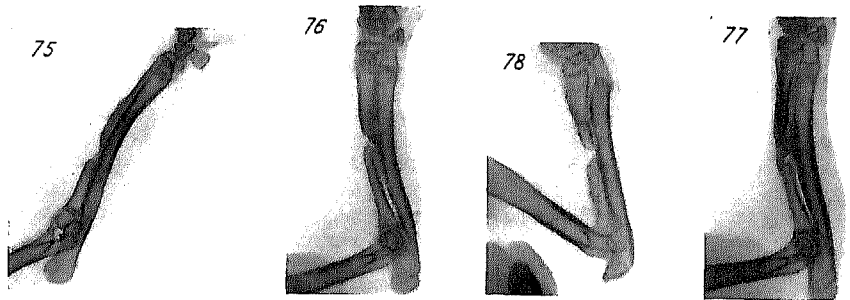


Abb. 4a. Am 50. postop. T. 75 Kontrolle, 76 normale Kost + Cebion, 78 C-vitaminfreie Kost, 77 C-vitaminfreie Kost + Cebion.

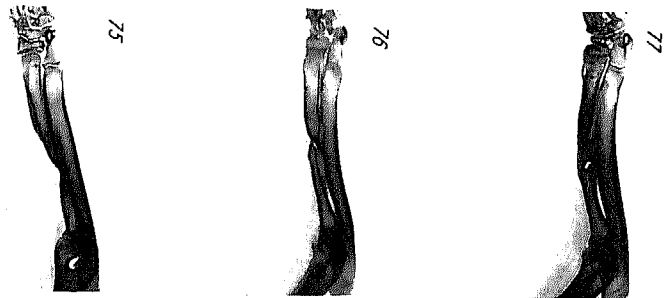


Abb. 4b. Am 70. postop. T. 75 Kontrolle, 76 normale Kost + Cebion, 77 C-vitaminfreie Kost + Cebion.

als bei der Kontrolle. — Endgewicht bei Tier 75 474 g, anfangs 270 g, bei Tier 76 360 g, anfangs 220 g, bei Tier 77 478, anfangs 300 g.

Das C-vitaminfrei ernährte Tier geht nach 50 T. ein, keine Callusbildung, sondern Resorption. Callusbildung am stärksten bei den Cebiontieren (C-vitaminfrei + Cebion noch schneller als bei normaler Kost + Cebion), die Kontrolle bleibt deutlich zurück.

Histologische Untersuchungen der Knochen haben wir nur am Anfang unserer Versuche vorgenommen. Der Callus bot keine faßbaren qualitativen Unterschiede bei den verschiedenen Tieren dar. Wir können deshalb auf eine nähere Erörterung in dieser Hinsicht verzichten.

III.

Bei der immerhin beschränkten Zahl der Versuche ist eine statistische Auswertung in strengem Sinn nicht gut möglich. Wie wir schon eingangs betonten, ist auch nur der Vergleich zwischen Tieren eines und desselben Wurfs verwertbar. Diesen haben wir am Schluß jedes einzelnen Protokolls vorgenommen. Wenn wir das wichtigste der Ergebnisse der ganzen Versuche zusammenfassend kurz erörtern dürfen, so ist es dieses: Einmal kommt es bei allen Kaninchen zur Heilung der experimentell gesetzten Knochenlücke, auch bei den C-vitaminfrei ernährten Tieren. Es entspricht das auch ganz der bereits erwähnten Fähigkeit des Organismus solcher Tiere, C-Vitamin selbst im Körper (Leber) zu bilden. Die Gewichtszunahme bei C-vitaminfrei ernährten Tieren spricht ebenfalls in diesem Sinne.

Versuch 3 zeigte, daß die Knochenregeneration bei einem C-vitaminfrei ernährten Kaninchen in derselben Zeit und demselben Umfang verlief wie beim Kontrolltier. Im Versuch 5 war anfangs das C-vitaminfrei ernährte Tier sogar dem normal ernährten Tier + Cebion wie der Kontrolle überlegen. Versuch 8 können wir, wie gesagt, kaum werten.

Alle anderen Kaninchenversuche ergaben nun eindeutig, daß *zusätzliche Gaben von Vitamin C zu normaler Kost die Regeneration gegenüber den Kontrollen z. T. allerdings nur gering, z. T. aber sehr deutlich beschleunigten*. Aus Versuch 1 und 2 geht auch eine schnellere Regeneration bei C-vitaminfrei ernährten Tieren, die Cebion erhielten, gegenüber der Kontrolle hervor. Das C-vitaminfrei ernährte Tier 409, das Cebion erhielt, warf sogar im Lauf des Versuches 5 gesunde Junge, die sich sehr gut entwickelten.

Nach *Findlay* werden weibliche Kaninchen bei C-vitaminfreier Ernährung trächtig, aber die Jungen werden tot geboren. Sie zeigen typische Blutungen und Knochenveränderungen.

Wenn man von diesem Befund ausgeht, so können wir zeigen, daß *es durch Gaben von reinem C-Vitamin bei C-vitaminfreier Kost der Muttertiere gelingt, die Jungen ohne irgendwelche krankhaften Erscheinungen geboren werden zu lassen*.

Um nun den Einfluß des reinen C-Vitamins bei einem wirklichen Skorbuttier kennenzulernen, haben wir außer an Kaninchen auch an dem klassischen biologischen Testobjekt für Skorbutversuche, dem Meerschweinchen, gearbeitet. U. W. ist mit der von uns angewandten Methode der exakt hergestellten experimentellen Knochenlücke, wie sie besonders *Burckhardt* ausgearbeitet hat, am Meerschweinchen noch nicht gearbeitet worden. Die Verhältnisse sind bei diesem Tier natürlich noch feinere als beim Kaninchen. Man muß hier besonders zart und schonend operieren. Aber wir konnten uns überzeugen, daß dann die Resektion sehr gut ausführbar war. Allerdings, wir haben den Eindruck, daß sich das Meerschweinchen an sich nicht so sehr für solche Versuche eignet. Die Knochen-

regeneration verlief doch im ganzen viel langsamer und unvollständiger als beim Kaninchen. Das erhöht auch wieder die Fehlerquellen bei Vergleichen.

Die Folgerungen, die wir aus unseren Meerschweinchenversuchen ziehen können, sind folgende. Einmal gingen sämtliche C-vitaminfrei ernährten Tiere an den klassischen Symptomen des Skorbut ein. *Gab man C-vitaminfrei ernährten Tieren Cebion, so blieben sie am Leben und entwickelten sich kaum unterschiedlich von den Kontrolltieren.*

Außerordentlich wichtig ist der Einfluß des C-Vitamins auf die Wundheilung. Bei den C-vitaminfrei ernährten Tieren schmierende Wunden, bei zusätzlichen Gaben von Cebion im ganzen glatte Wundheilung.

Num die Knochenregeneration. Bei den Skorbuttieren nur vereinzelt anfangs Callusansätze, am Schluß z. T. Resorption der Fragmentenden; sehr lehrreich ist die große Defektbildung bei Tier 67. *Gab man Cebion zu C-vitaminfreier Kost, so ging die Knochenregeneration gut vonstatten.*

Bei unseren 4 Meerschweinchenversuchsreihen zeigte in der 1. (9.) die Kontrolle die schnellste und vollständigste Regeneration. Während das C-vitaminfrei ernährte Tier + Cebion diesem Tier bald folgte, war kaum Callusbildung bei dem normal ernährten Tier + Cebiongaben festzustellen. Woran das liegt, vermögen wir nicht sicher zu sagen. Wir gehen aber wohl nicht fehl, wenn wir hier an irgendwelche individuelle Faktoren denken. Auch das Gewicht war bei diesem letztem Tier am stärksten zurückgeblieben. Bemerkenswert war, daß die stärkste Gewichtszunahme bei dem C-vitaminfreien Tier + Cebion erfolgte, ähnlich war es in diesem Punkt der Gewichtszunahme auch bei den anderen Meerschweinchenversuchen (s. Protokolle). Bei der Versuchsserie 10 verlief die Knochenregeneration bei allen Tieren etwa gleich; vielleicht war die Kontrolle zuletzt eine Spur weiter. — Die Versuchsreihen 11 und 12 zeigen einen sehr deutlichen Vorsprung der normal und C-vitaminfrei ernährten Tiere, die Cebion erhielten, gegenüber den Kontrollen.

Biologische Versuche fallen selten 100%ig aus. In den Versuchen 5 (Kaninchen), kaum in Versuch 8, und in den Versuchen 9 und 10 (Meerschweinchen) verlief die Regeneration bei Gaben von Cebion nicht schneller, z. T. langsamer als bei den Tieren, die nicht Cebion erhielten. In den übrigen Versuchen, und sie sind bei den Kaninchen die große Mehrzahl, bei den Meerschweinchen die Hälfte, war jedoch *ein z. T. sehr offensichtlicher Vorteil in Schnelligkeit und Umfang der Knochenregeneration bei zusätzlichen Gaben von Vitamin C* festzustellen. Besonders die sehr exakt ausgeführten Versuche 6 und 7 (Kaninchen) und 11 und 12 (Meerschweinchen) zeigen das. Es ist natürlich, daß zu einem bestimmten Zeitpunkt die Heilung bei allen Tieren gleich weit und gut ausgebildet ist. Es gelingt aber, wie unsere Versuche zeigen, in einem großen, ja überwiegenden Prozentsatz, durch zusätzliche Gaben von Cebion besonders im Anfang die Regeneration zu beschleunigen.

Auch wir stehen auf dem Standpunkt, daß schon gewisse minimale Mengen von Vitaminen zum regelrechten Ablauf der verschiedensten vom Organismus zu leistenden Prozesse ausreichen, so auch der Knochen-

regeneration. Aber ob sich nicht doch in manchen Fällen durch zusätzliche Gaben von Vitaminen auch beim normal ernährten Organismus in verschiedener Hinsicht gesteigerte Wirkungen erzielen lassen? Z. B. bei der Knochenregeneration zumindest im Anfang ein schnellerer Ablauf und stärkerer Umfang derselben? Unsere Versuche, bei denen wir Fehlerquellen so viel wie möglich auszuschalten suchten, ließen sich in dem Sinne deuten.

Sie ergeben jedenfalls die wichtige Tatsache, daß *dem C-Vitamin bei der Knochenregeneration eine außerordentlich wichtige, unentbehrliche Rolle zukommt*. Fehlt es in der Nahrung (und im Organismus), so tritt keine Regeneration auf. Wird es zusätzlich zu normaler Nahrung gegeben, so wird fast überwiegend eine schnellere Regeneration erzielt. Die eingangs erwähnten Beobachtungen von *Sir Astley Cooper* und von *Lobmeyer*, ferner die Ergebnisse der Versuche von *Israel* und *Fränkel* stimmen hiermit überein. Diese Autoren haben den Einfluß C-vitaminhaltiger Nahrungsmittel studiert, wir konnten diese Tatsachen *am isolierten C-Vitaminpräparat* aufweisen.

v. Halász und *Marx*, die mit C-vitaminhaltigen Nahrungsmitteln arbeiteten, konnten keine Förderung der Knochenregeneration durch dieselben sehen. Wir erwähnten anfangs schon, daß diese Versuche leider mit nicht exakter Methodik ausgeführt wurden. Gleiches muß man auch von den Versuchen von *v. Jeney* und *v. Korpássy* sagen. Nur die exakte, stets mit gleicher Technik hergestellte Knochenlücke ist die für vergleichende Studien geeignete Methode.

Es sei hier nicht die Frage erörtert, wie die Beeinflussung der Regeneration durch das Vitamin C zu erklären ist. Allem Anschein nach leiden unter dem Mangel an Vitamin C alle beim Knochenwachstum beteiligten Faktoren, besonders aber die Osteoblasten. Hierfür sprechen die Vorgänge an den Odontoblasten, einmal bei Skorbutkost, das andere Mal bei Zulagen von Vitamin C (Versuche von *Willon* an Meerschweinchen, bei *Moll*). Die Zähne sind bekanntlich ein sehr feines biologisches Reagens für den Vitamin C-Nachweis; man kann ihre Veränderungen fast zur quantitativen Testung benutzen. Auf diese wichtige Tatsache, die im Einklang mit unseren Versuchsergebnissen steht, sei hier ausdrücklich hingewiesen.

Es liegt nahe, gerade bei Vitaminpräparaten den Blick auf die praktische Anwendung am Kranken zu richten. Wir betonten oben schon, daß im allgemeinen zum geregelten Ablauf der Knochenregeneration ein gewisses Minimum an Vitaminen, auch an Vitamin C, ausreicht. Es ist deshalb wohl kaum gerechtfertigt, auch wenn man eine Förderung des Knochenwachstums durch zusätzliche Gaben von Vitamin C annimmt, etwa bei jeder Fraktur Vitamin C zu geben. Uns scheint, wenn wir unsere an zwei verschiedenen Tierarten gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen (natürlich nur bedingt) übertragen, nur bei einem Vitaminmangel (bei Avitaminose und Hypovitaminose C) die C-Vitamintherapie

absolut indiziert zu sein. Es wäre also der wissenschaftliche Weg in der Zukunft der, bei nicht durch lokale ungünstige Faktoren bewirkten Pseudarthrosen und verzögerten Konsolidationen die C-Vitaminreserven des Organismus zu bestimmen. Das wird vorläufig, trotz der Bemühungen um den C-Vitamin-Nachweis, noch ein Zukunftstraum sein. Vorerst wird der Kreis der „Hypovitaminose“ sicherlich ein umstritten weiter sein. Bei den unter unseren jetzigen Verhältnissen aber sehr seltenen echten Avitaminosen liegt die Sache natürlich anders.

Man wird unter diesen Umständen und besonders angesichts der Tatsache, daß das Vitamin D nur geringe oder gar keine Beziehungen zur Knochenregeneration hat, berechtigt sein, das für die Knochenregeneration hauptsächlich in Betracht kommende Vitamin C bei allen Fällen von verzögerter Konsolidation und bei Pseudarthrosen zu verabreichen, vorausgesetzt, daß ihnen nicht lokale Faktoren zugrunde liegen (schlechte Stellung, Interposition von Weichteilen und dgl.). Geeignet erscheinen vorläufig auch blutig gestellte Frakturen und überhaupt Osteotomien, bei denen wir ja manchmal eine verlangsamte Regeneration feststellen müssen. Auch der Einfluß des C-Vitamins auf schlecht heilende Wunden wäre zu prüfen. Eine exakte Beurteilung der Wirkung beim Menschen wird angesichts der bei jeder einzelnen Fraktur verschiedenen Verhältnisse sehr schwierig sein. Aber bei kritischer Beobachtung und insbesondere bei steter Beachtung der Tatsache, daß nicht etwa *ein* Vitamin die Knochenregeneration allein bestimmt, sondern die Harmonie des Ganzen, aller Säfte und aller Prozesse, wird es doch in der Zukunft gelingen, eine nicht über das berechtigte Maß hinausgehende Anzeigenstellung festzulegen.

Zusammenfassung.

Mit Hilfe der Methode einer exakt, stets mit möglichst gleicher Technik hergestellten Knochenlücke wurden an Kaninchen und Meerschweinchen Versuche über die Rolle des reinen C-Vitamins (Cebion) bei der Knochenregeneration ausgeführt. Nur eine solche Methode, nicht die experimentell gesetzte Fraktur, gestattet vergleichende Schlüsse. Nur Geschwistertiere dürfen miteinander verglichen werden.

Bei den Kaninchen kam es zur vollständigen Regeneration auch bei C-vitaminfreier Kost, entsprechend der Fähigkeit dieser Tiere, C-Vitamin im Organismus selbst zu bilden. Es gelingt aber mit C-Vitamingaben bei C-vitaminfreier Kost des Muttertieres, *lebende und gesunde Junge zu erhalten*. Die *Knochenregeneration* wurde *durch zusätzliche Gaben von C-Vitamin zu normaler Kost in der überwiegenden Zahl der Versuche deutlich erkennbar beschleunigt*.

Bei den Meerschweinchen, die C-vitaminfrei ernährt wurden, entwickelte sich der klassische Skorbut, die Tiere gingen sämtlich ein. Die Wundheilung war schwerstens gestört. Ansätze zur Knochenregeneration fanden sich nur anfangs und teilweise. Z. T. kam es am Ende zu weitgehenden Resorptionen der Knochen. *Gab man C-Vitamin bei C-vitaminfreier Kost, so gingen Wund- und Knochenheilung ungestört vonstatten.* Bei der Hälfte der Versuche an Meerschweinchen wurde *durch zusätzliche Gaben von C-Vitamin zu normaler Kost eine offensichtlich beschleunigte und verstärkte Knochenregeneration erzielt.*

Diese Versuche ergaben die wichtige Tatsache, daß *dem C-Vitamin für die Wundheilung und für die Knochenregeneration eine außerordentlich bedeutsame, unentbehrliche Rolle zukommt.* Einmal tritt keine Regeneration des Knochens ein, wenn Vitamin C fehlt, zum andern wird durch zusätzliche Gaben von Vitamin C zu normaler Kost eine schnellere Knochenregeneration fast überwiegend erzielt. In diesem Sinne sprechen auch die bekannten, von Vitamin C-Gaben fast quantitativ abhängigen Veränderungen der Schneidezähne skorbutischer Meerschweinchen (Odontoblasten).

Bei der praktischen Anwendung am Menschen ist stets die Tatsache zu beachten, daß nicht etwa *ein Vitamin* allein die Knochenregeneration bestimmt, sondern nur die harmonische Zusammenarbeit aller Säfte des Organismus. Solange wir noch keine exakten Methoden zur Bestimmung des Zustandes der Hypovitaminose besitzen, wird man vorläufig berechtigt sein, C-Vitamin zusätzlich bei verzögerten Konsolidationen und bei Pseudarthrosen zu verabreichen, sofern nicht lokale Faktoren diese bedingen. Geeignet erscheint auch die Anwendung in der Nachbehandlung der blutigen Frakturenbehandlung, ferner u. U. bei schlechter Wundheilung. Eine nicht über das berechnete Maß hinausgehende endgültige Anzeigenstellung kann erst die Zukunft festlegen.

H. Boeminghaus: Dtsch. Z. Chir. 238, 684 (1933). — H. Burckhardt: Beitr. klin. Chir. 144, 1 (1928); Arch. klin. Chir. 157, 462 (1929). — W. Felix, N. Synodinos u. M. Jasdi-Sadeh: Dtsch. Z. Chir. 236, 381 (1932). — Findlay: J. of Pathol. 24, 175 (1921). — G. v. Halász u. J. Marx: Arch. klin. Chir. 169, 121 (1932). — H. Hellner: Dtsch. Z. Chir. 209, 307 (1928). — A. Israel u. R. Fränkel: Klin. Wschr. 1926 I, 94. A. v. Jeney u. B. v. Korpássy: Zbl. Chir. 1934, 2836. — Th. Moll: Dtsch. med. Wschr. 1934 II, 1197. — Mondry u. H. Boeminghaus: Arch. klin. Chir. 161, 273 (1930). — Schilowzew: Dtsch. Z. Chir. 209, 320 (1928). — W. Stepp: Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 1934, 384. — H. A. Swart: J. Bone Surg. 12, 360 (1930). — R. Varalopez: Dtsch. Z. Chir. 212, 101 (1928).

Die Ausführung der Versuche wurde durch Mittel der *Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft* ermöglicht, für deren Bereitstellung ich auch hier danke.