

Med. Met. Hefte Nr. 8, 1953. — 6. *Naegeli, Th.*, und *K. Daubert*: Dtsch. Z. Chir. 274, 576, 1953. — 7. *Brückner, A.*: Klin. Mbl. Augenhk. 101, 906, 1938; Schweiz. med. Wschr. 1941, 1242; Arch. of Ophthalm. 20, 1938. — 8. *Fischer, H.*: Über intraoculären Druck und Wetter. Inaug.-Diss. Leipzig 1934. — 9. *Steinkopf, K.*: Dtsch. med. Wschr. 1902, 929. — 10. *Nonnenmacher, H.*: Klin. Mbl. Augenhk. 123, 45, 1953. — 11. *Siebert, P.*: Klin. Mbl. Augenhk. 118, 472, 1951. — 12. *Schulze, R.*: Med. Met. Hefte Nr. 2, 1, 1950. — 13. *Koller, S.*: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Verlag Theodor Steinkopf, Dresden. — 14. *Ungeheuer, H.*: Fortschr. Med. 1951, 285. — 15. *Muralt, M.*: Klimaphysiologische Untersuchungen in der Schweiz. Benno Schwabe & Co., Basel 1948. — 16. *Straube und Scholtz*: Dtsch. med. Wschr. 1951, 24. — 17. *Kanz*: Grenzgeb. Med. 2, 194, 1949. — 18. *Knecht, F.*: Ophthalmologica 116, 21, 1948. — 22. *Becker, F.*: Wettervorgänge und ihr Einfluß auf das vegetative Nervensystem. Ber. der Phys.-Mediz. Gesellschaften, Würzburg, Bd. 66.

Adresse der Autoren: Prof. Dr. *H. Sautter*, Direktor der Univ.-Augenklinik, Hamburg-Eppendorf (Deutschland).

Wiesinger, H., H. Kaunitz und Ch. A. Slanetz: Ophthalmologica 129, 389, 1955

(Aus der Augenabteilung des Medical College of Virginia [Dir.: Dr. Dupont Guerry III] und der Abteilung für Pathologie der Columbia-Universität und des Presbyterian Medical Center, New York.)

Hornhautveränderungen bei Ratten im Riboflavinmangel.

Von HERBERT WIESINGER (Richmond, Virginia),
HANS KAUNITZ und CHARLES A. SLANETZ (New York, N.Y.).

Hornhautveränderungen an Versuchstieren bei Riboflavinmangel wurden erstmals von *Bessey* und *Wohlbach* (1939) beobachtet. Die Kapillareinsprossung in die klare Hornhaut aus dem oberflächlichen perilimbalen Gefäßnetz wurde als pathognomonisch für Ariboflavinose angesehen. Andere Autoren (*Sydenstricker, Hall* usw.) haben seither gezeigt, daß diese Hornhautveränderungen bei verschiedenen Mangelzuständen auftreten können, und sie vermochten ähnliche Veränderungen durch Mangelernährung mit Aminosäuren zu erzeugen.

Für das Verständnis früherer Riboflavinforschungen bildete

der Umstand eine gewisse Erschwerung, daß das Riboflavin in der Darmflora der Versuchstiere auch bei vollkommenem Mangel erzeugt wurde. Man war also nie sicher, wie stark die Fütterungsversuche durch bakteriell gebildetes Riboflavin modifiziert waren. Wir haben unsere Versuche durchgeführt, weil wir im Galaktoflavin einen ausgezeichneten Riboflavinantagonisten in die Hand bekamen, der es uns ermöglichte, unsere Versuche fast absolut riboflavinfrei zu gestalten.

Unsere Untersuchungen wurden an Ratten durchgeführt, die mit hochgereinigten Kostformen aufgezogen wurden (Kaunitz, 52 u. 53). Sorgfältig ausgewählte, vergleichbare Gruppen von 8—9 Tieren wurden mit Beginn nach 28 Tagen den experimentellen Kostformen zugeführt, die alle bekannten Ernährungsfaktoren enthielten und deren Eiweiß-, Fett- und Riboflavingehalt nach Belieben verändert werden konnte.

Wir haben neben Kalorienaufnahme und Wachstum, worüber an anderer Stelle berichtet wurde (Kaunitz, Wiesinger u. a., 1953) an verschiedenen Gruppen, die mit verschiedenem Eiweiß-, Fett- und Riboflavingehalt in der Kost aufgezogen wurden, die Hornhautveränderungen studiert. In einer anderen Versuchsreihe haben wir unter denselben Voraussetzungen zu den verschiedenen Kostformen 3—5 mg Galaktoflavin als Riboflavinantagonisten dazu verfüttert.

Die Augenuntersuchungen wurden mit Hilfe einer Zeiß-Spaltlampe und eines Hornhautmikroskops durchgeführt, wobei als Grad der Veränderungen die Anzahl von Hornhautkapillaren in einem Quadranten gezählt wurde. Histologische Untersuchungen wurden in verschiedenen Stadien vorgenommen.

Ergebnisse.

Die beobachteten Hornhautveränderungen stimmten im wesentlichen mit den Untersuchungen von Bessey und Wohlbach überein. Zu Beginn haben wir Einsprossen von Kapillarschlingen aus dem oberflächlichen perilimbalen Gefäßplexus in die Hornhaut beobachten können. Die Hornhaut war in diesem Stadium bei allen Versuchstieren klar. Histologisch lagen die Kapillaren unmittelbar unter dem Hornhautepithel (Abb. 1); Epithel und Stroma selbst zeigten keine pathologischen Veränderungen, insbesondere keine Zeichen entzündlicher Infiltration. In späteren Stadien wurde auch tiefe Hornhautvaskularisation beobachtet, wobei auch in diesem Stadium das Stroma frei von Infiltration war. Allerdings haben wir in diesem Stadium oft, sowohl biomikroskopisch wie histologisch, ein Ödem des Hornhautepithels feststellen können. Die histologischen Veränderungen waren in den verschiedenen Diätgruppen gleich.

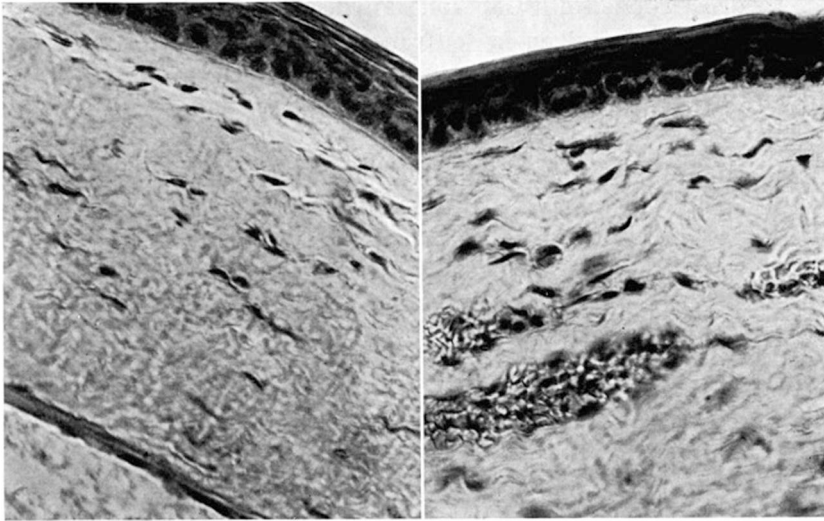


Abb. 1.

Abb. 2.

Häufigkeit und Zeit des Auftretens der Hornhautveränderungen werden in den Tabellen I und II gezeigt. Unterschiede zwischen den Gruppen manifestieren sich nicht nur durch größere Häufigkeit, sondern auch durch die Schwere der Veränderungen bei den einzelnen Tieren.

Bei 5% Kasein und 20% Fett in der Nahrung entwickelten sich die Veränderungen rasch und ohne Rücksicht auf den Riboflavingehalt der Kost. Unter höheren Eiweißmengen entstanden bei Riboflavinmangel die Veränderungen weniger rasch, aber nach 6—7 Wochen riboflavinfreier Ernährung waren auch in diesen Gruppen fast alle Tiere befallen. Nach Verabreichung hoher Eiweißmengen und Riboflavinzusatz sahen wir nie Veränderungen. Diese Ergebnisse stimmen mit denjenigen über Wachstum und Kalorienaufnahme gut überein.

Bei Galaktoflavinzusatz konnte kein wesentlicher Unterschied in der Schwere und Häufigkeit der Erkrankung gegenüber den Gruppen ohne Galaktoflavinzusatz festgestellt werden. Höhere Proteinkonzentrationen in der Kost bewirkten auch hier ein späteres Auftreten der Hornhautveränderungen. Diese Ergebnisse stimmen mit den Untersuchungen über Wachstum und Kalorienaufnahme nicht überein.

In den Gruppen mit Galaktoflavinzusatz entwickelten sich die Hornhautveränderungen in fettfrei ernährten Gruppen später als in solchen, die mit 20% Fett in der Kost ernährt wurden. Außerdem konnten wir zeigen, daß Hornhautveränderungen wesentlich früher auftraten, wenn der Kost an Stelle von frischem ein hoch-oxydiertes Fett zugesetzt wurde. Das gilt für die Versuchstiere unter allen verschiedenen Eiweißkonzentrationen in der Kost.

Diskussion.

Die Tatsache, daß Hornhautveränderungen bei Ratten, die unter Eiweißmangel ernährt wurden, sowohl bei Ariboflavinose als auch bei genügender Riboflavinzufuhr auftreten, könnte zu der Annahme führen, daß Eiweißmangel der kausale Faktor der Veränderungen ist. Andererseits kann genügende Eiweißzufuhr bei gleichzeitigem Riboflavinmangel das Auftreten der Erkrankung nicht verhindern, sondern nur hinauszögern. Das zeigt, daß Riboflavin im Organismus nur bei Gegenwart von genügend Eiweiß ausgenützt werden kann, und daß diese Art von Hornhautveränderungen durch eine eng verbundene Störung des Riboflavin- und Eiweißstoffwechsels bedingt ist.

Da Riboflavin im Organismus zunächst phosphoryliert und dann in Nukleoproteide umgewandelt wird, ist man vielleicht zu der Annahme berechtigt, daß es in den Nukleoproteidstoffwechsel eingliedert wird. Wenn man die Ergebnisse verschiedener Autoren über die bei Riboflavinmangel gefundenen Veränderungen zusammenfaßt (*Lepowsky* u. Mitarb., 1938; *Biskind* und *Biskind*, 1942; *Singher* u. Mitarb., 1944; *Shaw* und *Phillips*, 1941; *Bosse* und *Axelrod*, 1948; *Nelson* u. Mitarb., 1947; *Stoerk* und *Emerson*, 1949), so kommt man zu dem Schluß, daß gerade schnell wachsende oder sehr zellreiche parenchymatöse Organe die frühesten und schwersten Veränderungen aufweisen, also Zellen, bei denen Störungen des Nukleoproteidstoffwechsels am ehesten bemerkbar werden. Das Auftreten der Hornhauterscheinungen andererseits ließ sich, entgegen den Erscheinungen am Gesamttier, durch hohe Eiweißgaben auch bei nahezu völligem Riboflavinmangel verzögern. Das könnte vielleicht durch den anatomischen Bau der Hornhaut erklärt werden, deren Stroma ja ein besonders zellarmes Organ ist, und könnte somit bei Gegenwart von reichlich Eiweiß den Folgen des Riboflavinmangels länger widerstehen.

TABELLE I.

Häufigkeit von Hornhautvascularisation bei Ratten, die vom 28. Tage nach der Geburt an mit verschiedenen Eiweiß- und Fettkonzentrationen mit oder ohne Riboflavinzusatz ernährt wurden.

Gruppe und Geschlecht	Kasein %	Fett %	Riboflavin	Häufigkeit nach Wochen an der Kost					
				2	3	4	5	6	7
E m	5	20	+				13/18	8/9	
F m	5	20	+	3/8		7/7			7/7
I m	5	20	+	2/8	6/8	8/8			
E m	5	20	0			9/9		9/9	
F m	5	20	0		4/8	8/8			8/8
E m	18	20	0			2/9		9/9	
F m	18	20	0		2/8	7/8		8/8	
E m	30	20	0	2/9				8/9	
F m	30	20	0		3/8		4/8	7/8	
I m	30	20	0		1/8	3/8			7/8
F m	5	0	+	2/8		3/8			8/8
I m	5	0	+	0/8	2/8	5/8			
F m	5	0	0		5/7	8/8			8/8
F m	18	0	0		1/7	3/8		6/8	
I m	30	0	0		0/8	2/8	5/8		

Der Zähler gibt die Anzahl der verwendeten Tiere an, der Nenner jene mit Hornhautveränderungen. Gleiche Buchstaben zeigen vergleichbare Gruppen derselben Serie an.

TABELLE II.

Häufigkeit von Hornhautveränderungen bei Ratten, die vom 28. Tage nach der Geburt an mit verschiedenen Eiweiß- und Fettkonzentrationen mit oder ohne Riboflavinzusatz, aber unter Zusatz von 3—5 mg Galaktoflavin ernährt wurden.

Gruppe und Geschlecht	Kasein %	Fett %	Riboflavin	Häufigkeit nach Wochen an der Kost			
				1	2	3	4
G w	5	20	+		1/5	4/5	5/5
H w	5	20	+	2/4		3/4	4/4
G w	5	20	0		0/5	5/5	5/5
H w	5	20	0	4/8	6/8	8/8	8/8
I m	5	20	0		2/8	5/8	7/8
I m	10	20	0		0/8	4/8	6/8
G w	30	20	0		0/5	0/5	3/5
H w	30	20	0	1/8		3/8	3/8
I m	30	20	0			3/8	3/8
H m	5	0	0	2/6	3/6	5/6	4/4
H m	30	0	0	0/6		0/6	4/6

Der Zähler gibt die Anzahl der verwendeten Tiere an, der Nenner jene mit Hornhautveränderungen. Gleiche Buchstaben zeigen vergleichbare Gruppen derselben experimentellen Serie an.

Zusammenfassung.

Vergleichbare Gruppen von Ratten wurden mit hochgereinigten Kostformen auf verschiedenen Eiweiß-, Fett- und Riboflavin-Konzentrationen aufgezogen. Zur Erzeugung bestmöglicher Ariboflavinose wurde verschiedenen Gruppen das Antivitamin Galaktoflavin zugefüttert. Hornhautveränderungen in Form oberflächlicher und tiefer Vascularisation des Stromas ohne begleitende Infiltration wurde an allen Tieren mit 5% Kasein mit oder ohne Riboflavinzusatz beobachtet. Höhere Kaseinkonzentrationen verzögerten das Auftreten der Hornhautveränderungen signifikant im Riboflavinmangel, noch deutlicher bei gleichzeitigem Fettentzug. Zwischen ariboflavinotisch ernährten Gruppen mit oder ohne Galaktoflavin bestand im Gegensatz zu Wachstum und Kalorienaufnahme bezüglich der Hornhautveränderungen kein Unterschied. Es wird angenommen, daß Riboflavinentzug eine spezifische Rolle in dieser Art der Hornhautdegeneration spielt und die zellarme Struktur der Hornhaut für den Unterschied im Verhalten zum Gesamtorganismus verantwortlich ist.

Summary.

Matching groups of rats were raised on highly purified, riboflavin-low diets, containing various levels of protein and fat. In order to attain a more complete ariboflavinosis, some groups got an addition of the antivitamin Galactoflavin in their diets. Corneal vascularization in the superficial and deeper layers of the corneal stroma occurred equally in all animals on 5% casein, regardless of riboflavin intake. Higher protein levels delayed significantly the development of the corneal changes in ariboflavinosis, and these changes were further delayed on fat-free diets. In contrast to observations as to growth and food consumption, there was no difference in the corneal changes between groups with and without Galactoflavin supplement. The conclusion was drawn that lack of riboflavin plays a specific part in this type of corneal degeneration, and that the structure of the cornea with its few cells in the stroma was responsible for the difference in the behavior from the whole organism.

Résumé.

Des groupes comparables de rats ont été nourris selon des régimes très purifiés à des concentrations différentes en albumines,

graisses et riboflavine. Pour engendrer l'ariboflavinose la plus complète possible, plusieurs groupes reçurent l'antivitamine galacto-flavine. Toutes les bêtes recevant 5 % de caséine avec ou sans addition de riboflavine, présentèrent des modifications de la cornée sous forme de vascularisation profonde et superficielle du stroma sans accompagnement d'infiltration. De plus fortes concentrations de caséine retardèrent l'apparition des modifications cornéennes caractéristiques du manque de riboflavine ; cela est encore plus net lors de suppression simultanée des graisses. Au point de vue cornéen, il n'y avait pas de différences entre les groupes nourris sans riboflavine (avec ou sans galacto-flavine), en opposition à la croissance et prise de calories. On suppose que la privation de riboflavine joue un rôle spécifique dans cette variété de dégénérescence cornéenne et que la pauvreté de la cornée en cellules entraîne cette divergence de comportement avec le reste de l'organisme.

Literatur.

Bessey, O. A., and S. B. Wohlbach: J. Exper. Med. 69, 1, 1939. — Biskind, M. S., and G. R. Biskind: Endocrinology 31, 109, 1942. — Bosse, M. D., and A. E. Arelrod: Proc. Soc. Exper. Biol., N.Y. 67, 418, 1948. — Kaunitz, H.: Wien. Med. Wschr. 1952, 356. — Kaunitz, H., R. E. Johnson and C. A. Slanetz: J. Nutrition 46, 151, 1952. — Kaunitz, H., H. Wiesinger, F. C. Blodi, R. E. Johnson and C. A. Slanetz: J. Nutrition 52, 467, 1954. — Lepovsky, S., L. W. Taylor, T. H. Jukes and H. J. Almquist: Hilgardia 11, 559, 1938. — Nelson, M. M., E. Sulon, H. Becks and H. M. Evans: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. (Am.) 66, 631, 1947. — Shaw, J. H., and P. H. Phillips: J. Nutrition 22, 345, 1941. — Sydenstricker, V. P., W. K. Hall, C. W. Hock and E. R. Pund: Science 103, 194, 1946. — Sydenstricker, V. P., W. K. Hall, L. L. Bowles and H. L. Schmidt, Jr.: Ibid. 34, 481, 1947.

Adresse der Autoren: H. Wiesinger, M.D., 1200 East Marshall Street, Richmond, Va. (U.S.A.); H. Kaunitz, M.D., und Ch. A. Slanetz, M.D., 630 West, 168 Street, New York, N.Y. (U.S.A.).