

Aus dem Institut für Tierphysiologie und Tierernährung der Universität Göttingen

(Direktor: Professor Dr. Dr. W. Lenkeit)

Zur Frage der Wirksamkeit der Saponine als Antivitamin D*)

von H. BRUNE und K. GÜNTHER

Mit 4 Abbildungen in 17 Einzeldarstellungen und 4 Tabellen

(Eingegangen am 13. Juli 1960)

In früheren Arbeiten (2) konnte bei gleichzeitiger oraler Applikation von Vitamin D und Triterpensaponin (Gypsophilasaponin) im biologischen Vitamin D-Test eine Herabsetzung der Vitamin D-Wirksamkeit durch das Saponin nachgewiesen werden. Es wurde angenommen, daß das Sterin Vitamin D durch das Triterpensaponin intestinal im Sinne einer Additionsverbindung nach WINDAUS (13) gebunden und so evtl. zum Teil der Resorption entzogen sein könnte.

Die Weiterführung dieser Versuche mit Ratten erbrachte neue Ergebnisse über die biologische Wirkung von Vitamin D und verschiedener Triterpensaponine, über die im folgenden berichtet wird.

Versuchsmethodik

Die Versuche wurden mit jungen wachsenden Albinoratten des Stammes HK 51 durchgeführt, die in besonderer Zuchtfolge erstellt wurden (4b). Die Versuchsgruppen umfaßten ca. 20 Tiere, die mit 35 g bei einem Alter von 20 Tagen abgesetzt wurden. Nach dreitägiger Vorfütterung wurden nur Ratten mit positiver Gewichtsentwicklung ausgeselen und zu den 14 Tage dauernden Hauptversuchen mit Einzelfütterung zusammengestellt. Die Grundsatzfragen wurden in Weiterführung der Versuche auch bei älteren Tieren untersucht.

Ausgehend von einer rachitogenen Grundkost, die bereits in früheren Versuchen verwendet wurde (2b), sind durch Einstellung des Calcium- und Phosphorgehaltes mit CaCO_3 und $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ drei verschiedene Diätformen entwickelt worden, die sich nicht in den Nährstoffträgern unterscheiden. Die H-Kost gewährleistet eine harmonische, die M-Kost eine minimale, die C-Kost eine rachitogene Gesamtentwicklung der Ratten bei bedingt restriktiver Fütterung (Beschränkung der Futteraufnahme auf ca. 10 g Trockensubstanz täglich) im Laufe von 14 Versuchstagen.

	Ca %	P %	Ca:P
H-Kost	1,32	0,66	2,0 : 1
M-Kost	0,13	0,28	0,46 : 1
C-Kost	1,32	0,28	5,29 : 1

Die orale Applikation der Vitamin D_3 -Dosen (0,1 ccm als ölige Lösung) und der wässrigen Saponinlösung (0,1 ccm) erfolgte mit der Schlundsonde täglich vor der Fütterung

*) Herrn Professor Dr. Dr. W. LENKEIT zum 60. Geburtstage gewidmet.

und zwar sukzessiv, soweit beide Stoffe gegeben wurden. Die Kontrollen erhielten die Trägerlösungen ebenfalls mit der Schlundsonde.

Das Gypsophilasaponin stammte als Saponinum purum aus dem Handel. Das Zuckerrübensaponin wurde durch alkalische Extraktion von Zuckerrübenschnittzeln erhalten, anschließend durch fraktionierte Fällung mit HCl isoliert, gefriergetrocknet und mit Äther-Alkohol weiter fraktioniert und letztlich durch Ionenaustauscher mineral-entionisiert. Das Luzernesaponin wurde nach dem von LINDAHL (9) angegebenen Verfahren gewonnen.

Am 14. Tage des Hauptversuches wurden die Ratten geröntgt und das Röntgenbild nach besonderem Verfahren (4b) ausgewertet. Das Anfangs- und Endgewicht der Tiere ist aus dem Mittel dreier aufeinanderfolgender Nüchternwägungen berechnet.

Für die histologische Untersuchung wurden Tibia und Femur am Versuchsende präpariert, in MÜLLER-Formol-Lösung fixiert und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Die chemische Analyse der von Weichteilen frei präparierten Tibiae und Femura auf Trockensubstanz, Fett, Asche, Ca und P wurde nach bekannten Methoden vorgenommen.

V Versuchsergebnisse

A) Toxizität

In Vorversuchen, die zum Auffinden der Verträglichkeitsdosis von Saponinen durchgeführt wurden, wurden toxische Erscheinungen studiert. Die LD 50 (Letaldosis 50%) für wachsende Ratten oben angegebener Gewichtsklasse nach 14tägiger Fütterung mit C-Diät betrug für Gypsophilasaponin 6 mg täglich, während Luzerne- und Rübensaponin noch mit mehrfach höheren Dosen unter gegebenen Versuchsbedingungen vertragen wurden.

Das typische Bild der Saponinvergiftung bestand bei den Versuchstieren aus folgenden klinischen Symptomen: Im Vergleich mit den Kontrollen ist das Haarkleid struppig und Schwanz-, Anal- und Genitalgegend z. T. feucht und stark verschmutzt. Das Wachstum wird trotz fast gleichbleibender Futteraufnahme stark gehemmt. Die Körperhaltung ist stark gekrümmt. Der Leib der Ratten ist meistens aufgetrieben, der Intestinaltrakt enthält größere Gasmengen. Leichter bis mittelgradiger Durchfall ist stets gegeben, meist ist der Harn blutig. Die Tiere sitzen apathisch herum, vermeiden Bewegungen und reagieren auf Berühren mit Abwehrbewegungen (Beißen). Das Erscheinungsbild verschlimmert sich in 2 bis 3 Tagen zusehends und führt in den meisten Fällen innerhalb von 12 Stunden zum Exitus. Charakteristisch ist, daß diese Symptome frühestens nach 48 Stunden und bis zum Ende einer 4wöchigen Versuchszeit individuell gestreut erfolgen können.

Die toxischen Erscheinungen wurden nicht vertieft weiter untersucht, da hier zunächst nur die Wirkung verträglicher Saponindosen im noch allgemein als „physiologisch“ angesehenen Bereich interessieren.

B) Somatische Wirksamkeit

Vorbemerkungen; Es ist zum besseren Verständnis dieser kurzgefaßten Arbeit notwendig, die hier vertretenen Grundbegriffe für die Bewertung eines somatischen Effektes kurz darzulegen. Vorweg sei auch bemerkt, daß alle Grundwerte für die Vitamin D-Wirksamkeit allein aus vollständigen Entwicklungsreihen entnommen wurden, die z. T. schon veröffentlicht sind (4).

Unter Wachstum wird hier grundsätzlich eine Strukturänderung der biologischen Substanz verstanden, die beim jugendlichen Vielzeller immer mit einer zumindest lokal hervortretenden Massenvermehrung bestimmter Organe verbunden ist.

Es werden euphysiologisches, pathophysiologisches und pathologisches Wachstum unterschieden und dementsprechend Wachstumsbereiche abgegrenzt.

Das pathologische Wachstum, das einer besonderen Eigengesetzlichkeit folgt, wird in dieser Arbeit nicht ausgewertet. Der pathologische Wachstumsbereich ist erreicht, wenn im späteren Wachstumsverlauf eine Strukturänderung nicht mehr durch Regeneration sondern nur noch durch Reparation möglich ist.

Für Ernährungsstudien, bei denen Meßwerte einem alimentär gesteuerten Wachstumsprozeß entnommen werden, ist es notwendig, einen euphysiologischen und pathophysiologischen Wachstumsbereich zu unterscheiden und in den Kontrollen experimentell abzugrenzen. Dies ist durch die angeführten Kostformen möglich. Dabei wird für jeden Wachstumsbereich gleichzeitig ein gedehnter Ansprechbereich erzielt, so daß eine Differenzierung somatischer Effekte möglich ist. Die Wachstumsbereiche sind in einer früheren Arbeit (4e) näher beschrieben.

Euphysiologisches Wachstum ist eine harmonisch gezielte und synergistisch gerichtete Strukturveränderung aller Organe mit Massenzunahme, wobei der simultan verlaufende Umbau im Organismus nicht obligat alimentär beeinflussbar sein muß.

Pathophysiologisches Wachstum ist primär eine disharmonische Strukturveränderung einzelner Organe, die erst sekundär den Gesamtorganismus erfaßt. Der simultan verlaufende Organumbau ist alimentär beeinflussbar.

Bei experimentellen Ernährungsstudien werden aus versuchstechnischen Gründen selten alle Stoffwechselrichtungen auf einmal bearbeitet, sondern das Ergebnis durch schrittweise Untersuchungen spezifischer Stoffwechsellagen gesucht. In dieser Arbeit erschien für die angeschnittene Fragestellung zunächst die Erforschung der somatischen Effekte von Vitamin D und Saponin am Erfolgsorgan Knochen und am Gesamtwachstum einer orientierenden Studie wert.

Körpergewichtsentwicklung

Alle untersuchten Saponinarten rufen in gewissen Grenzdosen, die allgemein im Verträglichkeitsbereich liegen, bei jungen intensiv wachsenden Ratten eine deutliche Wachstumsdepression hervor.

Tabelle 1

Durchschnittliche Gewichtszunahme von je 20 Ratten bei C-Kost in 14 Versuchstagen, Anfangsgewicht 35,0 g

Kostergänzung	Zunahme in %
1. ohne Vitamin D	100% (26,2 g)
2. mit 1 IE Vitamin D	
a) ohne Saponin	74%
b) 6 mg Luzernesaponin	67%
c) 2 mg Rübensaponin	61%
d) 4 mg Rübensaponin	47%
e) 2 mg Gypsophilasaponin	51%

Das in Tabelle 1 aus orientierenden Vorversuchen gegebene Beispiel ist besonders typisch, weil selbst bei einer nur eine geringe Wachstumsintensität bewirkenden Diätform (C-Kost), die noch zusätzlich durch den wachstumshemmenden Effekt von einer IE Vitamin D (4) subsomatisch wirkt, eine weitere Wachstumsdepression möglich ist.

Auch bei Vitamin D-freien Kostformen, die eine optimale Wachstumsentwicklung im untersuchten Zeitabschnitt garantieren, ist nach Saponin-

gaben eine Wachstumsinhibierung möglich. So wird z. B. bei H-Kost der Gewichtszuwachs durch 1 mg Rübensaponin täglich bis zu 30% herabgesetzt.

Tabelle 2

Durchschnittliche Gewichtszunahme von je 20 Ratten bei H- oder M-Kost in 14 Versuchstagen, Anfangsgewicht 35,0 g

	Vitamin D ₃	ohne Saponin	+ 1 mg Rübensaponin
I H-Kost (Ca 1,32%, P 0,66%)	ohne 0,66 IE	100% (50,8 g) 77%	70% 40%
II M-Kost (Ca 0,13%, P 0,28%)	ohne 0,66 IE	100% (40,5 g) 86%	80% 75%

Die durch Saponin verursachte Hemmung des Körpergewichtszuwachses ist gradmäßig durch den Kalzium-, Phosphor- und Vitamin D-Gehalt der Kost weitgehend beeinflussbar, wie Tabelle 2 aufzeigt. Grundsätzlich wird die durch Saponingaben hervorgerufene Hemmung der Körpergewichtsentwicklung durch Vitamin D verstärkt. Bei ausreichendem Kalzium- und Phosphorgehalt der Kost (Tabelle 2, I) ist der wachstumshemmende Einfluß von Saponinen stärker als bei Ca-P-armer Nahrung.

Wachstum der Tibia

Ein kritisches Organ zur Messung einer Vitamin D-Aktivität ist die Tibia, speziell der proximale Tibia-Bereich. Sowohl Vitamin D als auch Saponin sind in diesem Bereich somatisch leicht nachweisbar wirksam.

Für das Wachstum der Tibia ist der Tibia-Epiphysendurchmesser B ein gutes Kriterium. Die Messung des B-Wertes kann, wie bereits früher mitgeteilt (4b), sowohl in Pronations- als auch in Supinationsstellung der Tibia nach Vergrößerung des Röntgenbildes sicher erfolgen.

Unter dem Einfluß einer Konzentrationsfolge von verschiedenen Vitamin D-Gaben ändert sich bei allen untersuchten Kostformen der B-Wert nicht proportional zur Vitamin D-Dosis (Vgl. Abb. 1). Bis zu einer IE Vitamin D weist die Wirkungskurve vielmehr Minima und Maxima innerhalb der Konzentrationsfolge auf. Zur besseren Verständlichmachung vergleichbarer Werte erscheint es angebracht, die maximale Zuwachsrate des B-Wertes, die bei der M-Diät gegeben ist, als Bezugsgröße zugrunde zu legen.

Für die Kostformen M und H ergibt sich mit steigender Vitamin D-Konzentration ein Absinken der Zuwachsrate des B-Wertes und zwar sowohl in Pronations- als auch in Supinationsstellung. Für die C-Kost ergibt sich gleichfalls in beiden Projektionsebenen ein „scheinbarer“ Anstieg der Zuwachsrate, der nicht als euphysiologisches Wachstum gedeutet werden kann, was weiter unten noch erklärt wird.

Die B-Werte der Pronations- und Supinationsprojektion der Tibia, wie sie in Abb. 1 dargestellt sind, lassen sich zu einer Dreiecksfläche rechnerisch zusammenfassen, die dem wahren Knochenquerschnitt im Bereich der pri-

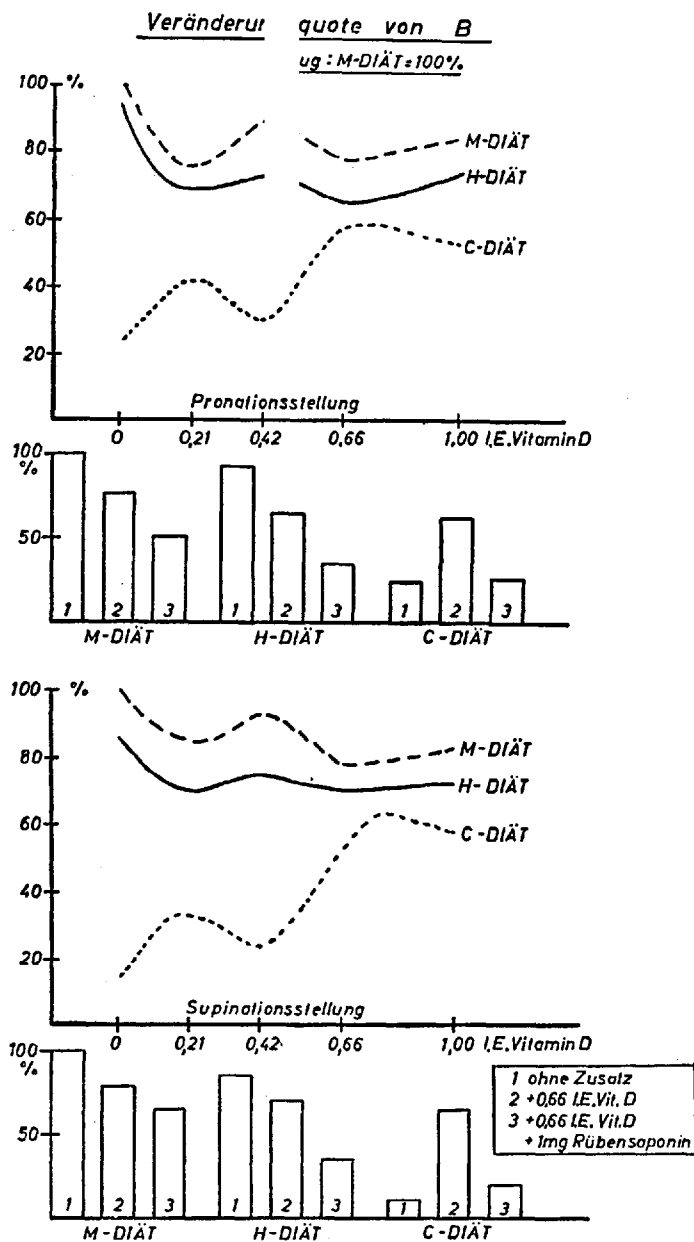


Abb. 1. Vgl. Text

mären Verkalkungszone der proximalen Tibiadiaphyse theoretisch angenähert entspricht. Diese Fläche kann demnach nach der Formel

$$= \frac{B\text{-Wert}/Pronation}{0,5 \times B\text{-Wert}/Supination} \text{ berechnet werden.}$$

Die Darstellung der Fläche Δ ergibt ein theoretisch angenähertes Maß für ein zweidimensionales im wesentlichen enchondral gesteuertes Knochenwachstum. Der Tibiaquerschnitt Δ in Abb. 2 zeigt die gleichen Tendenzen wie sie für die B-Werte gegeben sind. Durch die Darstellung des Δ Wertes kommen die vorliegenden Verhältnisse anatomisch richtiger und im Ergebnis deutlicher zum Tragen.

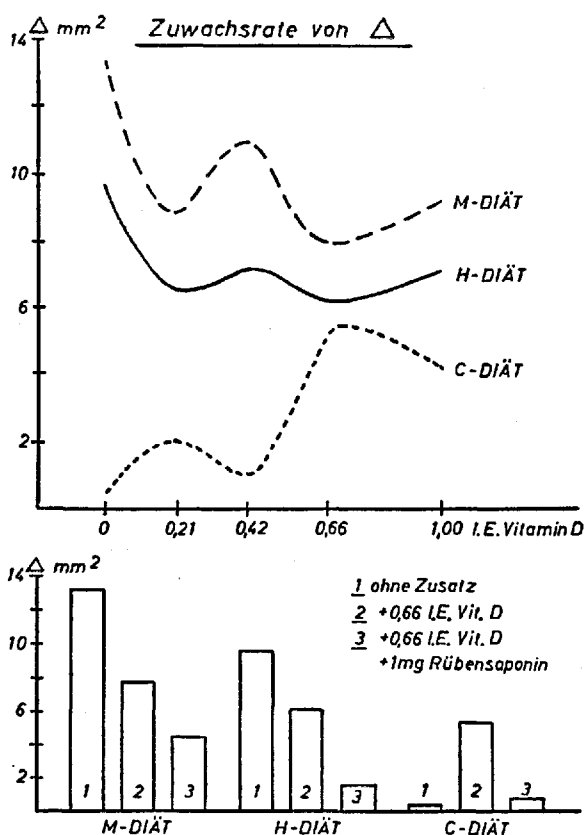


Abb. 2. Vgl. Text

Bei der M- und H-Kost kommt es durch steigende Vitamin D-Gaben zu einer Verminderung der Fläche Δ , bei C-Kost zu einer Vergrößerung von Δ .

Die Kostformen M und H stellen Grenzkostformen für den euphysiologischen Wachstumsbereich dar, der durch ein synergistisch mit der Gesamtkörpergewichtszunahme korreliert positiv verlaufendes Knochenwachstum

gekennzeichnet ist, wie in eigenen ausgedehnten Reihenuntersuchungen festgestellt wurde. Die Kostform H vermag in der Versuchszeit den endharmonischen Zustand (optimale Gesamtkörpergewichtszunahme und optimale Knochenentwicklung) hervorzurufen, während die Kostform M die euphysiologische Minimalentwicklung (Grenzwert zum pathophysiologischen Bereich) herzustellen vermag.

Die gefundene Verminderung von Δ oder B bei diesen Kostformen nach Applikation von Vitamin D bedeutet eine echte Herabsetzung der Wachstumspotenz im euphysiologischen Bereich.

Bei C-Kost sind die Vorbedingungen auch eines nur minimalen euphysiologischen Wachstums nicht erfüllbar. Der Anstieg von Δ oder B bei C-Kost nach Applikation von Vitamin D kann nur als „scheinbare“ positive Wachstumsbeeinflussung angesehen werden, wie die Auswertung des Röntgenbildes und der Knochenschnitte ergibt.

Durch Ergänzung der H-, M- und C-Kost mit z. B. 0,66 IE Vitamin D und gleichzeitig 1 mg Rübensaponin täglich wird, wie im Blockdiagramm der Abb. 2 dargestellt, der Δ -Wert in allen Fällen erheblich verkleinert. Diese Verkleinerung ist nach den oben dargelegten Grundsätzen bei der M- und bei der H-Kost als eine Verstärkung der Inhibitionswirkung von Vitamin D auf das euphysiologische Wachstum, also als eine synergistische Wirkung zum Vitamin D aufzufassen. Im Gegensatz dazu stellt die partielle Aufhebung der „scheinbaren“ Stimulierung von Vitamin D bei C-Kost im pathophysiologischen Bereich eine antagonistische Wirkung zum Vitamin D dar, wenn man die Wirkungsrichtung von Vitamin D und von Saponin einander gegenüber stellt.

Vitamin D und Saponin verhalten sich bei diesem Beispiel nur antagonistisch, wenn die Wachstumseffekte im pathophysiologischen Bereich verglichen werden.

Veränderungen des proximalen Epiphysenknorpels der Tibia

An diesem für die Beurteilung einer Vitamin D-Wirksamkeit wichtigen Kriterium des Knochens, dem F-Wert der Tibia, der röntgenographisch erfaßbaren Projektionsfläche des proximalen Tibiaepiphysenknorpels, lassen sich auch für Saponin bestimmte Wirkungsrichtungen festlegen.

In Abb. 3 ist die Fläche F der Tibia in Pronations- und Supinationsstellung unter dem Einfluß verschiedener Vitamin D-Dosen, bei H-, M- und C-Diät dargestellt. Die Entwicklungsmöglichkeit für den Epiphysenknorpel bei der H- und bei der M-Diät sind hier relativ gering, bei der C-Diät dagegen groß.

Bei allen Kostformen führen zusätzliche Vitamin D-Gaben grundsätzlich zu einer Verkleinerung der Fläche F. Im Blockdiagramm der Abb. 3 ist dargestellt wie dieser Vitamin D-Effekt durch eine zusätzliche Gabe von 1 mg Rübensaponin täglich aufgehoben wird. Dieser Saponineffekt hebt den Vitamin D-Effekt bei H- und M-Kost total auf, bei C-Kost nur partiell.

Das Saponin verhält sich hinsichtlich dieses Testkriteriums wie ein Antivitamin D, wobei eine stärkere Abhängigkeit der Wirkungsintensität von dem jeweiligen Wachstumszustand gegeben ist, der durch die Kostform ohne Vitamin D allein bestimmt wird. Bei der C-Kost erweist sich das Saponin als Antivitamin D schlechthin.

Tabelle 3
Antivitamin D-Effekt von Saponinen bei C-Kost

Saponinart	täglich		wiedergefunden IE Vitamin D	scheinbarer Verlust an Vitamin D %
	Saponin mg	Vit. D IE		
Gypsophila	2	1	0,40	60
	4	1	1,00	pathol. Bereich
Luzerne	6	1	0,34	66
Zuckerrübe	0,5	0,66	0,50	24
	1,0	0,66	0,43	35
	2	0,66	0,41	38
	4	1	0,36	64

Die Tabelle 3 zeigt auswahlweise den „Antivitamin D-Effekt“ verschiedener Saponinarten gemessen an F. Die Fläche F ist im prophylaktischen Vitamin D-Test ein Kriterium zur Messung der Vitamin D-Wirksamkeit.

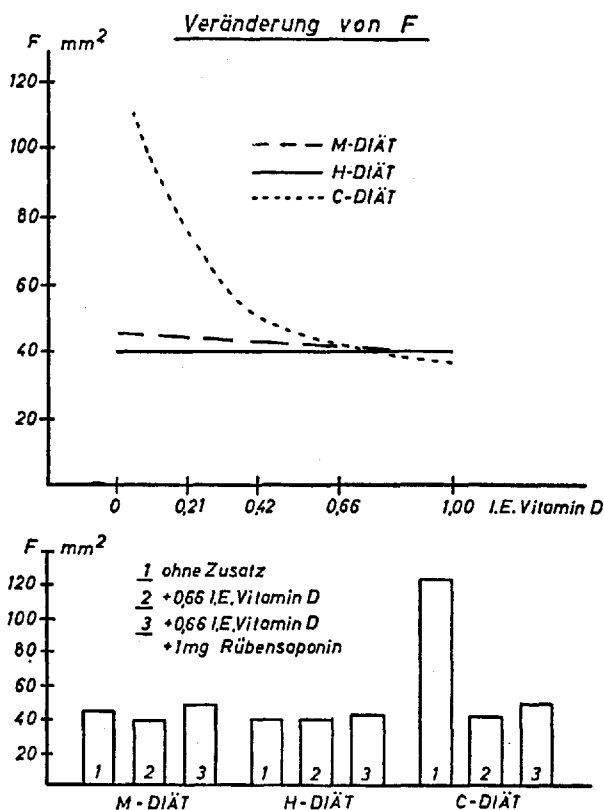


Abb. 3. Vgl. Text

Gemessen an F ist in Tabelle 3 an Hand von Eichkurven (Abb. 3) der Verlust an Vitamin D durch zusätzliche Applikation von Saponin berechnet. Alle Saponinarten hemmen die Vitamin-D-Wirksamkeit. Höhere Saponindosen verhindern die Knorpelwucherung total.

C) Die röntgenographische Auswertung der Knochen des Kniegelenkbereiches

Vorbemerkungen: Aus dem Röntgenbild sind, wie schon früher dargelegt (4b), zwei in ihrem Wesen unterschiedliche Entwicklungstendenzen der Knochenbildung mit oder ohne Vitamin D in der Kost abzulesen. Beide Tendenzen führen erfahrungsgemäß zu einem funktionsfähigen tragenden Knochen, ohne daß klinische pathologisch erkennbare Deformationen auftreten. Die Frage nach dem euphysiologischen Typ der Knochenentwicklung bleibe hierbei zunächst offen. Ohne Vitamin D entwickelt sich das Knochengewebe, soweit das röntgenographisch ablesbar ist, bei angepaßter Ca- und P-Versorgung (H- bis M-Kost) allgemein diffus regenerativ. An der Tibia ist z. B. keine hervortretende Bevorzugung der Verkalkung des Trabekelsystems 1. und 2. Ordnung zu erkennen, die für das enchondrale Wachstum gegebenen Entwicklungszonen sind voll ausgebildet. Diese Verhältnisse bleiben im wesentlichen auch bei einer rachitogenen Diät, wie sie bei der C-Kostform vorliegt, erhalten. Zusätzlich jedoch kommt es hierbei ablesbar zu einer atypischen Knorpelwucherung.

Bei Vitamin D-haltiger Kost und ausgeglichenem Ca und P-Angebot (H- bis M-Kost) zeigt sich das zweite Bild der Knochenentwicklung. Es läßt eine bevorzugt gerichtete konservierende Knochenentwicklung erkennen. Diese ist durch eine bevorzugte Verschattung der Trabekel erster Ordnung gekennzeichnet und zeigt in den Wachstumszonen des Knochens nur wenige Neubildungselemente als Zeichen einer deutlichen Wachstumsinhibierung.

Diese Entwicklungstendenzen sind unverkennbar unterschiedlich. Das Studium der Entwicklungstendenzen bei unter der Schutzdosis liegenden prophylaktischen Vitamin D-Dosen bis hinauf zu Wirkungs-dosen, die zur Hypervitaminose D führen (3), läßt für die Vitamin D-Wirkung per se einen antisomatischen Effekt als Primärwirkung deutlich erkennen. Alle anderen bisher als primär angesehenen Wirkungen des Vitamin D, wie z. B. die Mineralstoffeinlagerung, lassen sich als Folgeerscheinung einer antisomatischen Primärwirkung deuten, wobei die Wirkungsketten noch unbekannt sind. Eine von diesem antisomatischen Effekt des Vitamin D abtrennbare Vitamin D-Wirkung am Knochen ist in allen bereits durchgeführten Versuchsreihen niemals nachzuweisen (4a-e).

In Abb. 4 sind die Röntgenpositive des Kniegelenkbereiches in Pronationsstellung bei H-, M- und C-Diät mit und ohne Vitamin D und Rübensaponingaben dargestellt.

Sowohl Saponin als auch Vitamin D wirken antisomatisch, wie an einigen Beispielen oben dargelegt wurde; sie ergänzen sich aber in dieser Wirkung nicht unter allen Aspekten. Dies geht aus den röntgenographischen Untersuchungen hervor.

Ausgehend von einer harmonischen Calcium-Phosphorversorgung, wie sie bei der H-Diät gegeben ist, sind die in den Vorbemerkungen beschriebenen Grundtypen der Knochenentwicklung am Knochen Nr. 6 und 7 abzulesen. Der allgemein diffus regenerative Typ der Knochenentwicklung (Knochen Nr. 6) zeigt in der Epiphyse eine gute Ausbildung der Konturen der Trabekel aller Ordnungen und eine scheinbare Zweiteilung des Tibia-Epiphysenknorpels. Die Zunahme der Schattendichte in der Diaphyse von der primären zur sekundären Spongiosa erfolgt fast stufenlos. Die primäre und die sekundäre Spongiosa schließen eng auf und zeigen in der Höhe der Projektion eine fast geradlinige Abgrenzung. Die sekundäre Spongiosa entspricht in der Durch-

bildung der Schattenverteilung der des Epiphysenkernes. Die Corticalis ist in der Projektion sehr stark und breit angelegt. Schon durch die Zulage von 0,66 IE Vitamin D während der Versuchsperiode entwickelt sich der für die Vitamin-D-Wirkung typische Zustand (Knochen Nr. 7). Dieser bevorzugt gerichtete Typ konserviert die schon bestehende Grundanlage des Knochens, ohne dessen weiteren Ausbau zuzulassen. Die Konturenschärfe aller sicht-

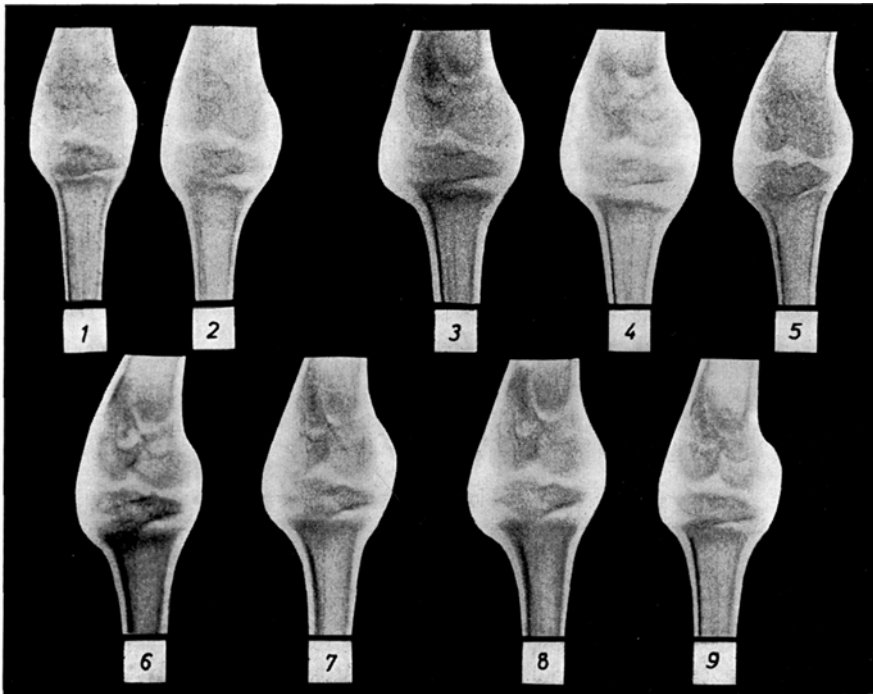


Abb. 4. Röntgenpositive des Kniegelenkbereiches nach 14 Versuchstagen
Nr. Diätform IE Vitamin D Zuckerrübensaponin

		täglich	mg täglich
1	C	0,66	—
2	C	0,66	1
3	M	0,66	—
4	M	0,66	1
5	M	0,66	2
6	H	—	—
7	H	0,66	—
8	H	—	1
9	H	0,66	1

baren Bauelemente ist hervorragend gekennzeichnet, jedoch fehlt es an dem feinstrukturellen Ausbau der Trabekel höherer Ordnung. Auch die Apposition in der Corticalis (Vgl. Knochen Nr. 6 mit 7) ist stark herabgesetzt und aufgelockert, was besonders deutlich in den Metaphysenwinkeln hervortritt.

Die Knochen Nr. 8 und Nr. 9 in Abb. 4 zeigen die Beeinflussung dieser Grundtypen durch 1 mg Zuckerrübensaponin täglich. Eine Typenveränderung des Knochens durch Saponin ist dabei nicht gegeben (vgl. Knochen 6 mit 8 und Nr. 7 mit 9 in Abb. 4), wohl aber ist allgemein eine gradmäßige Verminderung der für die Grundtypen gegebenen Charakteristika festzustellen.

Gleichsinnig an den beiden Knochentypen mit und ohne Vitamin D wirkt das Saponin strukturauflösend, wobei alle verkalkten Elemente anscheinend im gleichen Maße betroffen werden. Beim regenerativen Typ der Knochenentwicklung (vgl. Knochen Nr. 6 und 8 in Abb. 4) wird die Projektion der proximalen Tibia-Epiphysenknorpelfläche F geringgradig vergrößert (Wirkung in Richtung einer Rachitogenese) und die Strukturzeichnung diffuser sowie die Schattendichte herabgesetzt. Ein konservierender Typ der Knochenentwicklung, wie er für die Vitamin D-Wirkung charakteristisch ist, entsteht unter Saponineinfluß nicht.

Beim konservierenden Typ der Knochenentwicklung wird die Weiterentwicklung des Knochens durch zusätzliche Saponingaben insgesamt stark unterdrückt. Durch die Wachstumshemmung am Gesamtknochen ist die proximale Epiphysenknorpelfugenfläche verkleinert. Die typische Strukturstärke des konservierenden Knochentyps wird aufgelöst und die Apposition stark gehemmt.

Die grundsätzliche Beeinflussung des Strukturbildes ist auch bei der Kostform M (vgl. Knochen Nr. 3 bis 5 in Abb. 4) und bei der C-Diät (vgl. Knochen Nr. 1 und 2 in Abb. 4) im Sinne einer optisch wahrnehmbaren „Entmineralisierung“ durch das Saponin gegeben. Tatsächlich liegt eine geringere Mineralstoffeinlagerung vor, worauf weiter unten noch eingegangen wird.

Eine Antivitamin D-Wirkung von Saponin am rachitogenen Merkmal (proximale Epiphysenknorpelfugenfläche) tritt bei den Kostformen C und M typischer in Erscheinung. Die Grundauffassung, daß die Vitamin D-Wirkung am Knochen u. a. in einer Inhibierung der Knorpelproliferation und des normalen Wachstums besteht, ein Prozeß, der in der Anlage mit einer Strukturkonservierung verbunden ist, wird hier bei diesen Kostformen infolge mangelhafter positiver Wachstumsstimulierung durch adäquate Phosphormengen besonders deutlich.

Dieser Vitamin D-Effekt wird hinsichtlich des Testkriteriums F durch Saponin in starkem Maße aufgehoben. Die Gesamtwachstumsdepression durch das Vitamin D wird dagegen durch gleichzeitige Saponingaben noch weiter verstärkt.

Am Knochen Nr. 5 in Abb. 4, der einen Extremfall einer möglichen Saponin-Vitamin D-Wirkung subletaler Art demonstriert, geht die Wachstumsinhibierung soweit, daß weder eine Proliferation des Knorpels noch ein normales Wachstum des Knochens möglich ist. Jedoch ist an diesem Knochen eine Strukturverdichtung an der größeren Schattendichte abzulesen, die weitgehend eine Konzentrierung auf das kleinere Knochenvolumen darstellen dürfte.

In den Knochen Nr. 1 und 2 in Abb. 4 bei C-Diät ist nach Saponingaben eine gesicherte partielle Aufhebung der spezifischen antirachitischen Vitamin D-Wirkung am Epiphysenfugenspalt (F-Wert) erkennbar. Diese wurde zahlenmäßig bereits weiter oben beschrieben.

Das röntgenographisch erfaßbare Gesamtbild des unter Saponineinfluß stehenden Knochens läßt vermuten, daß evtl. ein Stadium der Osteoporose vorliegen könnte. Der allgemeine Gesamteindruck der Knochenentwicklung unter Saponineinfluß ist der, daß ein „vorzeitig gealterter“, oder „überalterter“ Knochen angelegt wird.

D) Histologische Befunde an Tibia und Femur

Die histologische Untersuchung einzelner Knochentypen, die durch Vitamin D und Saponinbeifütterung zustande kommen, werden als Beispiele oben aufgezeigter Entwicklungstendenzen angeführt. Diese Befunde sind zur Sicherung der röntgenographischen Untersuchung notwendig. Die histologische Untersuchung verdanken wir Herrn Professor Dr. W. EGER, Pathologisches Institut der Universität Göttingen.

Bei den Diätformen ergeben sich folgende Einzelheiten:

1. H-Kost ohne Zulagen

Die Wachstumsfuge sowohl des Femur als auch der Tibia zeigt eine regelrecht breite Knorpelzone, die sich in ruhenden, in Säulenknorpel und in wuchernden Knorpel schichtet. Die Anordnung ist regelrecht. Die Richtungsbälkchen, bzw. die primäre Spongiosa ist parallel angeordnet, die weitere Spongiosa mit kräftigen Bälkchen und die Compacta intakt. Abbauvorgänge sind an keiner Stelle nachweisbar.

2. H-Kost mit 0,66 IE Vitamin D täglich

Das histologische Bild zeigt eine gestörte Bildung der Grundsubstanz, die durch eine hervortretende Unordnung in der Knorpelzone gekennzeichnet ist. Im einzelnen ist der Säulenknorpel wenig geordnet, der wuchernde Knorpel deutlich verbreitert, in Unordnung und weist blasig aufgetriebene Knorpelkörperchen auf. Bei allerdings parallel stehenden Richtungsbälkchen erscheint die primäre Spongiosa etwas verbreitert. Die Compacta ist besonders im Metaphysenwinkel aber auch im Diaphysenschaft durch Bildung von Howship'schen Lakunen und Nischen aufgelockert. Im Bereich der Richtungsbälkchen ist eine Aktivierung der Osteoblasten und auch einzelner Osteoklasten nachweisbar. Desgleichen ist in der sekundären Spongiosa eine Aktivierung der Osteoblasten festzustellen. Im Bereich der Compacta sind am Metaphysenwinkel beiderseits erhebliche Abbauvorgänge mit Osteoklasten und einem fibrös proliferierenden Periost zu finden.

Sowohl aus dem histologischen Befund als auch aus der Entwicklungsstudie am Röntgenbild darf geschlossen werden, daß die Vitamin D-Wirkung bei einer harmonischen Ca-P-Versorgung durch einen endostalen aktivierten Umbau gekennzeichnet ist, was insbesondere im Vergleich mit dem Knochen bei H-Kost ohne Zulage zum Ausdruck kommt.

3. H-Kost mit 1 mg Rübensaponin täglich

Das histologische Bild ist durch eine eigentümliche hervortretende Homogenisierung der Grundsubstanz gekennzeichnet, wobei eine eigentümliche Ordnung in der Knorpelzone vorhanden ist. Im einzelnen ist die Schicht des Säulenknorpels gegenüber dem wuchernden Knorpel schmal, wobei die schmalen Säulen regelrecht angeordnet sind. Die Zone des wuchernden Knorpels erscheint beträchtlich verbreitert, die Verbreiterung des wuchernden Knorpels ist von der Peripherie ausgehend zunehmend unregelmäßig. Die Richtungsbälkchen hängen netzartig miteinander zusammen, sind im Ganzen aber doch parallel angeordnet. Die sekundäre Spongiosa erscheint weitgehend

rarifiziert. Die Compacta ist erheblich verschmälert, das Periost ist schmal und zeigt keinerlei Abbauvorgänge. Der Auf- und Abbau ist gegenüber dem Knochen bei H-Diät allein stark herabgesetzt.

Die weitergehende histologische Beurteilung des Saponinphänomens am Knochen erfolgt an anderer Stelle. Dabei wird die Frage, ob es sich bereits um einen spezifischen pathologischen Zustand handelt, herauszustellen sein.

4. H-Kost mit 0,66 IE Vitamin und 1 mg Rübensaponin täglich

Das histologische Bild zeigt im wesentlichen die am Saponinknochen gefundenen Merkmale. Offenbar wird die VitaminD-Wirkung durch die Saponinwirkung überlagert.

E) Die chemische Analyse von Tibia, Femur und Kniegelenk

Tibia, Femur und Kniegelenk der Ratten wurden zusammen von Weichteilen frei präpariert, wobei Periost, Gelenkkapsel und Gelenkinhalt erhalten blieben. Die Analyse der Präparate erstreckte sich auf Trockensubstanz, Rohfett, Rohasche, Calcium und Phosphor. Aus analytischen Reihenuntersuchungen sind die für vorliegende Fragestellung kennzeichnenden Analysenwerte zusammenfassend in Tabelle 4 angeführt.

Tabelle 4

Analysendaten von Tibia und Femur und Kniegelenk

Prozentuale Abweichungen von der Harmoniekost = 100%

	H-Kost	H-Kost + 1 IE Vit. D	H-Kost + 1 mg Rübensaponin	C-Kost
% Fett in der Trockensubstanz	7,8	— 2,5	+ 23	+ 82
In % der fettfreien Trockensubstanz:				
Rohascho	46,7	+ 12	— 5	— 61
Calcium	16,6	+ 4	— 7	— 69
Phosphor	8,4	+ 7	— 6	— 67

Der Rohfettgehalt der Knochen, der bekanntermaßen größeren individuellen Schwankungen unterworfen ist, läßt vorsichtig beurteilt gewisse Schlüsse auf die Knochenentwicklungsfähigkeit bzw. den Entwicklungszustand zu. Nach Tabelle 4 ist durch Rübensaponinzulage der Rohfettgehalt der Knochen erhöht, ein Phänomen, das auch bei steigender Imbalance von Ca und P in der Kost (z. B. C-Kost) festgestellt wurde. Ein erhöhter Rohfettgehalt des Knochens dürfte bei einem wachsenden Knochen in jedem Falle (Bezug: harmonische Entwicklung) auf eine „unharmonische“ Entwicklung hindeuten. Der Einfluß von Vitamin D auf den Fettgehalt der Knochen bleibt im Gegensatz zum Einfluß von Saponin relativ gering. Wenn auch nach Tabelle 4 im Hinblick auf eine statistische Sicherung keine gegensätzliche Wirkung von Saponin und Vitamin D in Bezug auf die Verfettung des Knochens abgelesen

werden kann, so bleibt doch die durch die Saponinwirkung hervorgerufene stärkere Verfettung des Knochens deutlich hervortretend.

Für die Mineralstoffeinlagerung per se ist die fettfreie organische Substanz bzw. die fettfreie Trockensubstanz für das physiologische Wachstum das Kriterium der Wahl. Hier treten individuelle Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen weniger in Erscheinung. Die Knochenasche (Rohasche) unterliegt abhängig von der Kostform charakteristischen Veränderungen, die in den angeführten Beispielen gleichsinnig durch die Analysenwerte für Kalzium und Phosphor wiedergegeben werden. Dieser Zusammenhang zwischen Rohasche, Ca und P ist schon natürlich durch den quantitativ hohen Anteil dieser Mengenelemente an der Rohasche gegeben. Aus einem Teil der Literatur ist bekannt (1,10), daß das Vitamin D den Aschegehalt bzw. den Calcium — und Phosphorgehalt der Knochen erhöht, ein Versuchsergebnis, das auch hier in vielen Ca- und P-variierten Untersuchungsreihen bestätigt werden konnte. Saponin vermindert in allen Fällen den Mineralstoffgehalt des Knochens und steht damit im Wirkungsgegensatz zu Vitamin D. Dieser Gegensatz gewinnt erst an Aussagekraft, wenn man ihn im Zusammenhang mit den röntgenographischen und histologischen Befunden betrachtet.

Der für das Vitamin D typische Befund einer Zunahme des Asche-(Ca, P) Gehaltes entspricht dem röntgenographischen Befund der Strukturverdichtung, die als sekundäre Folge einer generellen Wachstumshemmung durch Vitamin D ausgelegt wurde. Obwohl es sich nach den analytischen Werten um eine relative Substanzvermehrung handelt, ist damit noch nicht gesagt, daß es sich um einen euphysiologischen Zuwachs handelt. Letzteres wäre nach den in dieser Arbeit für das Wachstum gegebenen Definitionen nicht anzunehmen und wird insbesondere durch den histologischen Befund, der eine gestörte Bildung der Knochengrundsubstanz herausstellt, als nicht euphysiologisch ausgewiesen. Die Beurteilung des Entwicklungszustandes der Knochen allein an Hand der analytischen Daten hat oftmals zu Fehldeutungen geführt.

Der analytische Befund hinsichtlich der Saponinwirkung auf den Knochen bestätigt überzeugend den röntgenographischen Befund der Abnahme der Schattendichte und den histologischen Befund einer Rarifizierung des Knochengewebes.

Damit stehen Vitamin D- und Saponinwirkung in Bezug auf chemisch-analytische Daten im funktionellen Gegensatz, der jedoch nicht bei Heranziehung aller Beurteilungsmaßstäbe als kompetitiv zu deuten ist.

Zusammenfassende Diskussion

Einigen pharmakodynamischen Naturstoffen, wie z. B. einem großen Teil der Triterpensaponine, wird in letzter Zeit kaum mehr Beachtung geschenkt, da in der Zeit der klassischen Saponinforschung, die durch die Namen KOFLER, BLANCHARD u. a. gekennzeichnet ist, insbesondere beim Säuger nach oraler Zufuhr dieser Stoffe nicht sofort toxische Erscheinungen ausgelöst werden konnten. Die Tympanie nach Luzernefütterung ist nur als physikalisch bedingte Störung anzusehen (9). In einer neueren Arbeit über Rübensaponin wurde erneut eine gute Verträglichkeit oraler Zuckerrübensaponingaben an Hand der Futterverwertung als Testkriterium bei Ratten herausgestellt (12). Die bereits in eigenen Untersuchungen gefundenen Wir-

kungseffekte oraler Triterpensaponin-Gaben auf die Vitamin D-Wirksamkeit am Skelett deutete jedoch darauf hin, daß den Saponinen außerhalb des großen Rahmens der allgemeinen Futterverwertung doch eine spezifische intermediäre Wirkung zukommen muß. Nach heutiger Auffassung kann die Nährstoffwirkung einer Ration nicht mehr allein auf Grund der Wirkung der klassischen Nährstoffgruppen erklärt werden. Die Zahl der spezifischen Wirkstoffe, die additiv und korrelativ die Nährstoffwirkung beeinflussen, ist im raschen Ansteigen begriffen. Bei den Aufklärungsversuchen der Fehlernährungswirkung bestimmter in geringen Mengen wirksamer Naturstoffe in Nahrungs- und Futtermitteln blieben Restwirkungen, die noch nicht geklärt werden konnten. Ein Teil dieser in der angelsächsischen Literatur als „unidentified factors“ bekannten Substanzen bedarf noch ihrer näheren chemischen Aufklärung. Sicher gehören hierzu auch die chemisch schwer aus dem Nativverband isolierbaren Saponine, deren chemische Aufklärung zwar weit fortgeschritten, deren alimentäre Wirksamkeit beim Säuger jedoch so gut wie unbekannt ist. Beim Geflügel sind Leistungsstörungen durch Saponine oder saponinhaltige Pflanzen in letzter Zeit bekannt geworden. Auf eine erschöpfende Literaturbesprechung dieser Arbeiten kann verzichtet werden, da die Fragestellung „Saponin — Vitamin D“ in der Literatur nicht behandelt wird.

Im Zusammenhang mit den durch Nahrungs- und Futtermittel von der Zuckerrübenpflanze hervorgerufenen Störungen im Mineralstoffwechsel wurde der alimentären Wirkung des Zuckerrübensaponins besondere Beachtung geschenkt (2, 8). Vorversuche beim Wiederkäuer zeigten einen Einfluß oraler Gypsophila-Saponin-Gaben auf den Mineralstoffwechsel (2). Diese Untersuchungen wurden mit Zuckerrübensaponin fortgesetzt, die ähnliche oder gleiche Ergebnisse zeitigten (5).

In der Einleitung dieser Arbeit wurde bereits angeführt, daß Saponine die Vitamin D-Wirksamkeit mehr oder weniger aufzuheben vermögen. Dieser Befund beruhte zunächst allein auf der Feststellung einer gradmäßigen Veränderung der im prophylaktischen oder kurativen Vitamin D-Test röntgenographisch gemessenen Testkriterien.

Die partielle Aufhebung der biologischen Wirksamkeit einer oralen Vitamin D-Wirkung wäre durch Resorptionshemmung oder durch Funktionshemmung der Vitamin D-Wirksamkeit durch Saponine erklärbar.

Eine *Resorptionshemmung* für das Vitamin D könnte leicht durch die Annahme der Bildung einer Additionsverbindung Saponin—Sterin nach WINDAUS (13) erklärt werden, doch ist es bis heute nicht gewiß, ob diese hämolytisch nicht wirksamen Addukte intestinal oder intermediär nicht in anderer Hinsicht funktionsfähig bleiben. Die für das Gypsophila-Saponin leicht in vitro und im Hämolysetest nachweisbare Bindung von Sterin-Saponin wird für die hier in die Untersuchung einbezogenen Triterpensaponine (Zuckerrübe, Luzerne) nicht in vollem Umfange zur Erklärung der aufgefundenen Wirkungsbilder ausreichen. Das Luzernesaponin ist nicht hämolytisch wirksam und das Zuckerrübensaponin ist nach eigenen Untersuchungen nur partiell in der Hämolyse durch Sterine blockierbar.

Wie auch immer die chemisch denkbaren Verbindungen im Verdauungstrakt zur Erklärung der Antivitamin D-Wirkung der Saponine herangezogen werden mögen, eine befriedigende Erklärung der Gesamtwirkung allein auf Grund einer Resorptionshemmung ist nicht zu geben. Diese kann nur vom

Funktionstest am Tier ausgehen und den Weg einer Erweiterung der Symptomerfassung beschreiten.

Im Gegensatz zu der bisher vertretenen Ansicht der oralen Verträglichkeit von Triterpensaponingaben beim Schaf stehen Versuchsergebnisse mit relativ geringen oralen Gypsophila-Saponingaben, bei denen Exitus mit vorhergehender Totalhämolyse eintrat (2), was als Beweis für die Resorptionsfähigkeit von Saponin angesehen werden muß. Dem Exitus weit voraus gingen Veränderungen in der Blutzusammensetzung (u. a. Cholesterinspiegel).

Es ist also durchaus wahrscheinlich, daß Saponin ohne letale Folgen in kleineren Mengen unverändert oder in unbekannter Bindungsform resorbiert wird und die spezifische Saponinwirkung von einer Beeinflussung des intermediären Stoffwechsels direkt ausgeht.

Das bedeutet jedoch nicht, daß das Saponin an Resorptionssteuerungen nicht doch primär oder sekundär beteiligt sein kann. In eigenen Resorptionsstudien mit Kälbern konnte mit Hilfe von ^{32}P u. a. eine Veränderung der Phosphorresorptionsquote durch zusätzliche Saponingaben festgestellt werden, die jedoch nur ein relativ geringes Ausmaß hatte. Dagegen wurde die endogene Phosphorquote in diesen Versuchen durch orale Saponinbelastung erheblich verändert (5).

Zur Erklärung der weiteren Wirkung oraler Saponingaben könnte die Inhibierung noch unbestimmter Wachstumsfaktoren herangezogen werden. Diese Aussage bleibt jedoch rein spekulativ, da darüber noch keine experimentellen Befunde vorliegen.

Bei wachsenden Ratten wurde in dieser Arbeit dargelegt, daß subletale orale Saponingaben verschiedener Triterpensaponine stets das Wachstum, gemessen an der Gesamtkörpergewichtsentwicklung, hemmen. Das gilt sowohl für Gypsophila-, als auch für Luzerne und Zuckerrübensaponin. Eine Wachstumsförderung, wie sie in der Literatur (12) angegeben wird, wurde unter diesen Versuchsbedingungen bei wachsenden Ratten nicht gefunden. Sie wäre allerdings denkbar, wenn die Resorptionsquote von Wachstumsstimulatoren durch Saponin gefördert würde. In dieser Arbeit wurden deshalb in der Grundkost nur Wachstumsfaktoren verändert (Ca, P), von denen die Wirkungsrichtung in vielen Variationen weitestgehend bekannt ist; andere Faktoren, z. B. Vitamin A und andere Vitamine wurden soweit möglich absichtlich ausgeschaltet.

Die Wachstumsinhibierung durch Saponin überschreitet bei wachsenden Ratten das Maß, das durch eine Veränderung der Ca- und P-Zufuhr in weiten Grenzen maximal hervorgerufen werden kann.

In anderen eigenen Versuchen (2c, d) wurde eine Einflußnahme von Saponinen auf den Mineralstoffwechsel, insbesondere für Ca und P erneut bestätigt. In dieser Arbeit kann die durch orale Saponingaben induzierte Wachstumshemmung bei Ratten nicht allein als eine Resorptionsbeeinflussung für Ca und P durch Saponin ausgelegt werden, da wie bereits ausgeführt, das Ausmaß der Wachstumshemmung durch Saponin das durch eine Variation der Ca- und P-Zufuhr erzielbare Maß der Wachstumsbeeinflussung wesentlich übertrifft. Auf der anderen Seite ist bei subletaler Saponinzufuhr jedoch noch ein echter Restzuwachs zu verzeichnen.

Die Zielsetzung dieser Arbeit war eine nähere Aufklärung der schon festgestellten Antivitamin D-Wirkung von Saponin mit dem besonderen Ziel einer Differenzierung der Wirkungsrichtung im somatischen Komplex.

Dazu war es erforderlich, neben den für die Diätformen H, M und C bereits untersuchten Beeinflussungsmöglichkeiten des Wachstums von Körper und Skelett (4a—e) die *spezifischen somatischen Eigenwirkungen von Vitamin D* näher zu erläutern.

Vitamin D hemmt grundsätzlich die Gewichtszunahme junger wachsender Ratten bei harmonischer, minimaler und auch unbalancierter Ca- und P-Versorgung wie in eigenen, nahezu lückenlosen Reihenversuchen bei verschiedenem Ca- und P-Gehalt und Ca:P-Verhältnissen festgelegt wurde. Dieser Hemmeffekt von Vitamin D zeigt sich als reiner Ausnutzungseffekt der Nähr- und Mineralstoffe bei bedingt restriktiver Fütterung. CAUSERET und HUGOT (7) fanden 1957 bei Ratten zwar eine Wachstumsförderung durch Vitamin D, jedoch war diese mit einer Steigerung der Futteraufnahme verbunden. Den von CARLSSON 1954 (6) beobachteten Wachstumsschub bei Ca-Unterversorgung und Vitamin D-Gaben konnte hier nicht bestätigt werden. Ebenso stehen die vorliegenden Ergebnisse im Widerspruch zu dem von BELL u. a. (1) angegebenen Unbeeinflussbarkeit des Wachstums durch Vitamin D bei kalziumreicher Kost. Lediglich die Ergebnisse von STEENBOCK (11) stehen im Einklang mit dieser Arbeit, der bei hohem Ca- und niedrigem P-Gehalt eine deutliche Wachstumshemmung bei Ratten fand.

Der für Vitamin D allgemein gefundene antisomatische Effekt auf die Körpergewichtsentwicklung ist auch bei oral wirksamen Saponingaben stets feststellbar. Bei gleichzeitiger oraler Verabfolgung von Vitamin D und von Saponindosen tritt keine Aufhebung des antisomatischen Effektes der beiden Stoffe ein, vielmehr wird die *Wachstumshemmung verstärkt*. Diese Symptomentgleichheit bei Vitamin D und Saponingaben läßt die Wirkungsrichtung der Stoffe nicht differenzieren.

Am Skelett ergeben sich wohl differenzierbare somatische Wirkungsunterschiede zwischen Vitamin D und Saponin. Der Tibiaepiphysendurchmesser B, der ein gutes Kriterium für die Strukturveränderung des Organs im Sinne einer Massenvermehrung des Knochens gibt, verändert sich durch Vitamin D und Saponin charakteristisch. Diese Veränderung hängt gradmäßig von der Ca- und P-Menge und ihrer Kombination in der Kostform ab.

Durch Vitamin D-Gaben wird der B-Wert bei einer harmonischen bis minimalen Ca- und P-Versorgung bei einem euphysiologischen Ca:P-Verhältnis verkleinert. Im euphysiologischen Bereich wird das Tibiawachstum durch Vitamin D in allen Fällen gehemmt. Bei einer Imbalance im Ca:P-Verhältnis, das zu einer pathophysiologischen Knochenanlage führt, wird der B-Wert durch Vitamin D vergrößert. Die gleichen Prinzipien gelten auch für die Querschnittsfläche der Tibia im Bereich der Wachstumszone des proximalen Tibiakopfes. Diese Zone wurde aus der Röntgenprojektion in Pronations- und Supinationsstellung aus den B-Werten als Dreiecksfläche berechnet.

Das Vitamin D zeigt am B-Wert bzw. an der Fläche zwei grundsätzlich unterschiedliche Wirkungsrichtungen. Im euphysiologischen Bereich (H- bis M-Kost) handelt es sich um eine echte Wachstumshemmung des Knochens, wie sich aus Reihenuntersuchungen mit variierter Kostform aus dem Röntgenbild und aus den histologischen Befunden sicher ableiten läßt.

Die Vergrößerung des B-Wertes oder der Fläche Δ durch Vitamin D bei nicht balancierter hoher Ca-P-Versorgung, wie sie bei C-Kost gegeben ist, ist nicht als eine echte Wachstumsförderung und Rückführung in den euphysiologischen Bereich anzusehen, wie das Verhalten der Testkriterien B und Δ

allein bedeuten könnte. Wenn es auch prinzipiell möglich ist, auf Grund durchgeführter Entwicklungsreihen aus dem B-Wert bzw. der Fläche Δ allein schon eine „scheinbare“ Wachstumsförderung durch Vitamin D bei C-Kost abzuleiten, so wird diese Deutung des Wachstumsphänomens durch die Heranziehung röntgenographischer und histologischer Befunde erst verständlich.

Vitamin D führt unter allen gegebenen Versuchsbedingungen niemals zu einem euphysiologischen Knochen. In der Teildiskussion zu den Versuchsergebnissen ist genügend herausgestellt, wie auch bereits in früheren Arbeiten dargelegt, daß das Vitamin D ein spezifisches sowohl röntgenographisch als auch histologisch und chemisch analytisch differenzierbares Eigenbild der Knochenentwicklung bei allen Kostformen erzeugt. Ebenso liefert eine rachitogene Diät ein spezifisches Knochenbild, das nicht mit dem Vitamin-D-Knochenbild identisch ist. Es ist im allgemeinen dadurch charakterisiert, daß die Knorpelproliferation wenig unterbrochen, die Verkalkungsvorgänge dagegen gestört sind und die enchondrale Bildung von neuer Spongiosasubstanz weitgehend gehemmt ist. Es erübrigt sich, auf die allgemein bekannten spezifischen weiteren Einzelheiten dieses Knochenbildes näher einzugehen.

Vitamin D vermag in diesem Falle bei rachitogener C-Kost nicht regenerierend den pathophysiologischen (oder gar pathologischen) Zustand aufzuheben, sondern nur konservierend entsprechend der typischen Vitamin D-Wirkung bei allen Kostformen, durch Entwicklungsinhibierung im pathophysiologischen Bereich die durch Imbalance in der Kostform noch nicht unterdrückte Restwachstumspotenz zu erhalten, also zu konservieren. Das ist im wesentlichen nur denkbar durch eine lokale spezifische Wachstumshemmung. So ist z. B. die Vitamin-D-Wirkung röntgenographisch durch das Fehlen der Verkalkung von Trabekeln höherer Ordnung (relative Strukturarmut) und histologisch durch Überwiegen der Um- und Abbauprozesse steuernden Zellelemente gekennzeichnet. Therapeutische Dosen von Vitamin D leiten die bei der Hypervitaminose D beobachteten Anfangsabbauvorgänge bereits ein, wobei zunächst der die mechanische Funktion des Knochens noch erhaltende Umbau im Vordergrund steht. Eine anfänglich gegebene erhöhte Mineralstoffeinlagerung bei Vitamin D-Gaben darf über die Natur dieser Substanzzunahme, die nicht dem in dieser Arbeit erläuterten euphysiologischen Charakter entspricht, nicht hinwegtäuschen. Demnach ist eine B-Wert bzw. Δ Wert-Vergrößerung die Aufhebung eines pathophysiologischen Zustandes mit anderen Mitteln als beim euphysiologischen anabolen Vorgang durch mineralausgeglichene Kost.

Saponin erzeugt ebenfalls ein spezifisches Knochenbild, das noch im einzelnen pathophysiologisch zu klassifizieren ist, was an anderer Stelle angeführt wird.

Saponin fördert die durch Imbalance von Ca und P in der Kost (z. B. C-Kost) bereits gegebene Vergrößerung des unverkalkten Knorpels der Wachstumsfuge der Tibia. Dieses ist sowohl röntgenographisch, als auch histologisch sicher belegt und stellt den Effekt der Antivitamin-D-Wirkung von Saponin, gemessen am Epiphysenwachstumsknorpel (F-Wert), dar. Die Neubildung von verkalkter Spongiosa wird bei allen Kostformen durch Saponin in stärkerem Umfange als durch Vitamin D unterbunden. Es ist dabei selbstverständlich, daß sich diese Aussage auf die wirksame Dosierungshöhe der Saponine bezieht.

Die bisherigen röntgenographischen und histologischen Befunde lassen erkennen, daß Saponinwirkung und Vitamin-D-Wirkung zu völlig anderen Knochenstrukturen führen.

Die Saponinwirkung am Knochen ähnelt in ihrer Gesamterscheinung dem Bild einer Osteomalazie unbekannter Genese, wie sie bei älteren Tieren bekannt ist. Die histologisch gefundene Rarifizierung steht auch mit der relativen Abnahme des Mineralstoffgehaltes in Übereinstimmung. Der hier vorliegende junge wachsende Knochen macht unter Saponineinfluß den Eindruck eines frühzeitig gealterten und nicht nur wachstumsgehemmten Knochentyps. Dieses ist auch durch den relativ hohen Fettgehalt belegt. Bei gleichzeitiger Gabe von Vitamin D und Saponin ist eine Differenzierung der in dieser Arbeit im einzelnen beschriebenen spezifischen Wirkungsbilder der Komponenten noch nicht möglich. Jedoch ist mit Sicherheit festgestellt worden, daß bei Verabreichung beider Komponenten das Knochengewebe eine eigentümliche Entwicklung zur Dysfunktion und Destruktion zeigt. Obwohl ursächlich und symptomatisch hier erhebliche Unterschiede bestehen, kommt es in der funktionellen Zusammenwirkung von Vitamin D und Saponin also zu einer nicht nur überlagerten, sondern offenbar potenzierten Pathogenese.

Hinsichtlich der *Mineralstoffeinlagerung* unterscheiden sich Vitamin D-Wirkung und Saponinwirkung erheblich. Während Vitamin D unter vergleichbaren Verhältnissen von Ca- und P-Angebot wohl zu einer verstärkten Mineralstoffeinlagerung im Knochengewebe führt, ist bei Saponineinfluß eine Verminderung der eingelagerten Mineralstoffmenge zu verzeichnen.

Der Eingriff von Saponin in den weiteren Mineralstoffwechsel ist durch diese Untersuchungen erneut bewiesen. Ein Zusammenhang mit den Stoffwechselbeeinflussungen noch unklarer Genese, wie z. B. Rübenblattdurchfall, puerperale Hämoglobinurie und Osteomalazie, die im auffälligen Zusammenhang mit der Aufnahme von Saponinhaltigen Pflanzen stehen, ist durch diese Untersuchungen wahrscheinlicher geworden.

Eine Nahrungs- und Fütterungsregulierung hat nach den Ergebnissen dieser Arbeit gezielt und nur in einem Ausgleich der gesamten Mineralstoffversorgung, insbesondere hinsichtlich Ca- und P-Balance zu erfolgen. Auch hierbei bleibt eine schädigende Saponinwirkung auf den Knochen nachweisbar, sie ist hier jedoch relativ geringgradig im Gegensatz zur gesamten antianabolen Stoffwechselbeeinflussung.

Die therapeutische Anwendung von Vitamin D ist kein Antidot zur Saponinintoxikation, sondern bedeutet eine zusätzliche Belastung für den Knochen und wohl auch für den gesamten anabolen Stoffwechsel. Die Frage, ob Vitamin D allgemein ein nahrungsobligates Vitamin ist, könnte verneint werden. Das Vitamin D erscheint als Symptomaticum, dessen physiologische Wirkung in diesem Rahmen nicht als euphysiologisch charakterisierbar, in Gegenwart von Saponin sogar bedenklich ist.

Zusammenfassung

Bei verschiedenen Kostformen, die sich lediglich durch ihren Ca- und P-Gehalt und ihr Ca:P-Verhältnis unterscheiden, wurde an jungen wachsenden Ratten (35 g) 14 Tage lang oral Vitamin D und/oder verschiedene Saponingaben (Gypsophilasaponin, Zuckerrübensaponin und Luzernesaponin) verabreicht.

Auf Grund von somatischen Effekten, die als Körpergewichtsentwicklung, Strukturmasse im Bereich des proximalen Tibiasphysenpaltes in Entwicklungsreihen festgelegt

wurden, sowie der röntgenographischen und histologischen und chemisch analytischen Auswertung von Tibia und Femur, wurden folgende Befunde erhoben:

1. Bei subletalen Saponindosen wird die Körpergewichtsentwicklung grundsätzlich bei allen Kostformen ebenso wie bei prophylaktischen therapeutischen Vitamin D-Gaben gehemmt. Die Wachstumsinhibierung durch Vitamin D-Gaben wird durch gleichzeitige Saponingaben verstärkt.
2. Sowohl Vitamin D als auch Saponine hemmen bei allen Kostformen gemessen an der Wachstumszone der Tibia das Knochenwachstum. Die Kombination von Vitamin D und Saponin führt zu einer verstärkten Inhibierung des Knochenwachstums.
3. Die Vitamin D-Wirkung und die Saponinwirkung sowie die Wirkung jeder spezifischen Ca, P-Kostform für sich führen zu grundsätzlich unterschiedlichen Knochenentwicklungstendenzen.
 - a) Vitamin D erzeugt eine Wachstumsretardierung am Knochen, so daß die Wachstumsknorpelausbildung dadurch gehemmt wird. Die Um- und Abbauvorgänge können gegenüber dem Neuzuwachs überwiegen.
 - b) Saponine hemmen ebenfalls das Knochenwachstum bei bevorzugter Förderung der Knorpelwucherung mit „Entkalkungsvorgängen“ im übrigen Knochen.
 - c) Orale Saponingaben führen nicht zu einem typischen durch Ca-P-Imbalance in der Kost hervorgerufenen rachitogenem Knochen, vielmehr zu einem „vorzeitig gealterten“ Knochen, der eine bestimmte Form von Osteomalazie erkennen läßt.
4. Ein Antagonismus zwischen Vitamin D und Saponin besteht am Knochen hinsichtlich der Ausbildung des Knorpels der Wachstumsfuge der langen Röhrenknochen und des Mineralstoffgehaltes, woraus sich jedoch kein kompetitiver Wirkungsantagonismus ableiten läßt.
5. Vitamin D ist als Antidot gegen eine Saponinintoxikation ungeeignet.
6. Saponin hat einen ungünstigen Einfluß auf eine therapeutische symptomatische Vitamin D-Wirksamkeit.

Schrifttum

1. BELL, G. H., CHAMBERS, J. W. und DAWSON, I. M., J. Physiol. (London) **106**, 286–300 (1947). — 2. BRUNE, H., a) Z. Tierernähr. Futtermittelkd. **10**, 147–192 (1955); b) *ibid.* **11**, 267–289 (1956); c) Dtsch. Tierärztl. Wschr. **64**, 488–491 (1957); d) Rés. d. Comunic. 4. Congrès international de nutrition p. 258 (Paris 1957). — 3. BRUNE, H. und EGER, W., a) Arch. Tierernähr. Beih. **4**, 221–239 (1954); b) *ibid.* Beih. **5**, 244–269 (1954). — 4. BRUNE, H. und GÜNTHER, K., a) Z. Tierernähr. Futtermittelkd. **11**, 365–370 (1956); b) *ibid.* **12**, 380–393 (1957); c) *ibid.* **13**, 267–284 (1958); d) *ibid.* **14**, 19–34 (1959); e) *ibid.* **14**, 76–93 (1959). — 5. BRUNE, H. und KUDLICH, O., Z. Tierphys. Tierernähr. Futtermittelkd. **15**, 274–284 (1960). — 6. CARLSSON, A. und HOLLUNGER, G., Acta physiol. Scand. **31**, 317 (1954). — 7. CAUSERET, J. und HUGOT, D., Rés. d. Comunic. 4. Congrès international de nutrition p. 225 (Paris 1957). — 8. FREUDENBERG, F., Dtsch. Tierärztl. Wschr. **62**, 422–429 (1955). — 9. LINDAHL, I. L., SOOLE, A. C., DAVIS, R. E. und Mc CLAY, W. D., Science **119**, 157–158 (1954). — 10. NICOLAYSEN, R. und JANSSEN, J., Acta paediatr. **23**, 405–433 (1939). — 11. STEENBOCK, H. und HERTING, D. C., J. Nutr. **57**, 449–482 (1955). — 12. WAGNER, J. und STERNKOPF, G., Nahrung **2**, 338–357 (1958). — 13. WINDAUS, A., Ber. Dtsch. Chem. Ges. **42**, 238 (1909).

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. H. BRUNE u. Dr. K. GÜNTHER, Direktor des Instituts für Tierernährung der Justus-Liebig-Universität, Gießen