

**VI.****Experimentelle Untersuchungen über Knochentransplantation.**

(Aus dem Pathologischen Institut Bonn.)

Von

Dr. Chataro Tomita,  
(Nagoya, Japan).

Das Schicksal eines mit Erfolg transplantierten Knochenstückes, die Kenntnis all jener Vorgänge, die zu einer Einheilung am neuen Orte führen, ist für den Chirurgen von ebensolcher Bedeutung wie für den Pathologen.

In der Frage, ob ein völlig ausgelöstes, noch lebendes Knochenstück an seinem ursprünglichen Standorte oder an anderen Körperstellen desselben Individuums mit Erhaltung der Vitalität einheilen kann, oder ob es der Nekrose verfällt, scheint heutzutage die Ansicht von Barth<sup>1)</sup> allgemein angenommen worden zu sein. Seine Auffassung, die sich auf sorgfältige experimentelle und histologische Untersuchungen stützt, ist kurz folgende:

Ein in einen Knochendefekt eingepflanztes, isoliertes Knochenstück kann weder leben noch weiter wachsen, sondern es heilt nur mit Verlust der Vitalität ein. Sehr frühzeitig legen sich überall vom angrenzenden Periost aus neue Knochenschichten an die tote Knochensubstanz des eingepflanzten Fragmentes an, ebenso dringen die ausgebildeten Knochenmassen in die Haversischen Kanäle ein, so daß durch Anlagerung junger Knochensubstanz die tote von allen Seiten her zurückgedrängt wird. Im Laufe von Wochen wird der alte nekrotische Knochen durch diese Knochenneubildung völlig ersetzt, wobei aber die Resorption des letzteren ohne alle anatomisch sichtbaren Zeichen (Lakunenbildung usw.) abläuft; wie bei der enchondralen Verknöcherung der fötalen Röhrenknochen, dienen hier die verkalkte Grundsubstanz des abgestorbenen Knochens wahrscheinlich als Material

<sup>1)</sup> Barth, Histologische Untersuchungen über Knochentransplantationen. Zieglers Beiträge, Bd. 17, S. 675.

zum Aufbau des neuen. Dieser Auffassung hat sich auch Marchand<sup>1)</sup> angeschlossen.

Gegen Barth's Behauptungen wenden sich Wolff, Jakimowitsch, Laurent und Bonome u. a. m. Jakimowitsch<sup>2)</sup> wiederholte die Versuche beim Hund und fand, daß die eingehielten Fragmente bei vorausgeschickter Gefäßinjektion die Injektionsmasse angenommen hatten; er glaubt daher, daß das replantierte Knochenstück mit Erhaltung der Vitalität einheilen kann. Wolff<sup>3)</sup> erzielte bei Replantationsversuchen am Kaninchenschädel durch Krappfütterung während der Heilungszeit eine Rosafärbung der eingehielten Fragmente und glaubt daraus den Fortbestand der Vitalität erschließen zu dürfen.

Laurent<sup>4)</sup> hat bestätigt, daß das replantierte Schädelknochenstück eines Hundes nach 21 Tagen in knöcherner Vereinigung mit den umgebenden Teilen war und seine Knochenzellen tinktionsfähig und wohl erhalten waren.

Bonome<sup>5)</sup> hat in den Rückenmuskel einer Ratte ein aus dem Femur entnommenes Knochenstück eingeplant und nach Ablauf einer gewissen Zeit histologisch untersucht. In einem seiner Versuche hatte bei einem 2 Wochen alten Präparate, in dem ein ganzer Femur ohne Periost übertragen wurde, die ganze Knochenmasse mikroskopisch ein homogenes Aussehen angenommen. Sie färbte sich diffus, und es war nicht mehr möglich, in derselben Knochenzellen zu erkennen. Aber in vielen Präparaten gab es nach ihm an der Knochenfläche vereinzelte Punkte, wo der Untergang der zelligen Elemente ausgeblieben war und die Kerne noch stark auf Safranin oder Hämatoxylin reagierten. Von diesen Punkten aus breitete sich ein System osteoider Balken aus, auf deren Oberfläche und in den von derselben eingeschlossenen

<sup>1)</sup> Marchand, Zur Kenntnis der Knochentransplantation. Verh. d. D. Path. Ges. 1900.

<sup>2)</sup> Jakimowitsch, Versuche über das Wiederanheilen vollkommen getrennter Knochensplitter. D. Zeitsch. f. Chir., 1881, Bd. 15, S. 201.

<sup>3)</sup> Wolff, Zur Osteoplastik. Berl. Klin. Woch., 1869, S. 492.

<sup>4)</sup> Laurent, Recherches expérimentales sur la greffe osseuse. Thèse de Bruxelles 1893.

<sup>5)</sup> Bonome, Zur Histogenese der Knochenregeneration. Dieses Arch. Bd. 100, S. 293.

Räumen zahlreiche Osteoblasten nebeneinander stehen. Aus diesen Befunden hat Bonome den Schluß gezogen, daß aus den Knochenzellen eines am Leben gebliebenen Teiles des eingepflanzten Knochenstückes Osteoblasten entstehen und aus diesen Zellen eine Knochenneubildung auf der alten abgestorbenen Knochenschicht stattfindet.

Baerth hält Wolffs Ansicht für nicht einwandfrei, indem er bei seinem Versuch fand, daß auch ein nekrotisiertes Knochenfragment durch Krappfütterung des Tieres die Rosafärbung annahm. Er legt bei der Vitalitätsfrage des Fragmentes das Hauptgewicht auf die Tinktionsfähigkeit der Zellkerne mit Farbstoffen. Bei seinen Versuchen waren sehr oft transplantierte Knochenstücke makroskopisch ohne weiteres als lebende anzusehen. Aber bei starker Vergrößerung wiesen die meisten, scheinbar mit Hämatoxylin schön gefärbten Kerne der Knochenzellen eine schwere Veränderung auf, welche in Zerklüftung oder körnigem Zerfall der Kerne besteht; und er fügt hinzu: „Der Untergang der Knochenzellen vollzieht sich in der bereits beschriebenen Weise und pflegt am Ende der ersten Woche vollendet zu sein. .... Bei sehr jungen Tieren können vereinzelte Knochenzellen oder kleinere Gruppen von solchen völlig erhalten bleiben, davon konnte ich mich in den Versuchen an vier jungen Kaninchen noch bis zum 22. Tage überzeugen, und auch bei sehr jungen Hunden habe ich nach Wochen wohlgerhaltene Zellen im replantierten Fragment nachweisen können“. Er hat aber über die genauere Grenze der Lebensdauer solcher transplantierten Knochenstücke nichts weiteres mitgeteilt.

Nach dieser Literaturübersicht gehe ich nun zu meinen eigenen Versuchen über, welche ich auf Anregung und unter Leitung von Professor Ribbert mit den Schwanzwirbelknochen von Kaninchen und Hunden angestellt habe. Da es bekannt ist, daß bei einem ausgemeißelten Knochenstücke an seinen Meißel- und Bruchflächen gewöhnlich frühzeitig eine ausgedehnte Nekrose, selbst bei dem schonendsten Verfahren, auftritt, so habe ich bei meinen Versuchen jedesmal einen ganzen Schwanzwirbelknochen samt dem Periost und den daran fest ansitzenden Muskeln und Sehnen verwendet. Solche Schwanzwirbelknochen wurden in die Bauchhöhle des betreffenden Versuchstieres eingepflanzt.

Der Zweck meiner Versuche war festzustellen, wie lange ein vollkommen unversehrtes Knochenstück in anderem Körpergewebe seine Vitalität behalten kann, und ob Knochenneubildung überhaupt ohne Beteiligung des umgebenden Knochengewebes allein aus dem eingepflanzten Knochenstück, welches alle Bestandteile, vor allem auch Periost und Markgewebe, in sich enthält, stattfinden kann, und zwar, wie dies erfolgt und aus welchen Gewebe- teilen eines solchen eingepflanzten Knochenstückes eine Knochen- neubildung entsteht.

Nach meinen klinischen Erfahrungen bin ich der Ansicht, daß das übertragene Knochenstück sicher eine ziemlich lange Zeit seine Vitalität behält. In einem Falle habe ich einen ausgedehnten Tibiadefeat eines Verwundeten mit einem entsprechend großen, von der gesunden Tibia entnommenen Knochenstücke samt Periost und Mark ersetzt. Nach Ablauf einiger Zeit entstand in diesem Falle ein kleiner oberflächlicher Sequester in dem großen implantierten Knochenstück; die Wunde heilte erst nach dem Abstoßen dieses kleinen Sequesters rasch aus. Genaueres darüber ist in der Deutschen Zeitschrift für Chirurgie Bd. 90 publiziert.

Wie aus dieser klinischen Beobachtung und aus den folgenden Tierversuchen ersichtlich ist, erhält der große Teil des implantierten Knochenstückes, welches unter möglichster Vermeidung der bei der Operation vorkommenden mechanischen Schädigung entnommen wurde, eine lange Zeit die Vitalität und stirbt nicht so früh ab, wie man bis jetzt glaubte.

Bei den Versuchen wurden Schwanzwirbel des Versuchstieres nach der üblichen Reinigung der Haut einfach in den Ge- lenken herausgeschnitten und die Haut darüber vorsichtig mit C o o p e r'scher Schere abgetragen. Die Bauchwand wurde im Epigastrium möglichst wenig eröffnet, um eine Infektion zu ver- meiden; nach dem Eröffnen des Peritonaeum wurden ein oder zwei Wirbelknochen, welche während der Operation in einem sterilen Schälchen aufbewahrt waren, einfach in die Bauchhöhle eingelegt. Die Wunde wurde durch einige Nähte geschlossen. Die Unter- suchung solcher eingepflanzten Wirbelknochen wurde nach ver- schieden langer Zeit (3—130 Tage) vorgenommen. Die herau- genommenen Stücke habe ich jedesmal sogleich in Z e n k e r - scher Flüssigkeit fixiert und in Alkohol nachgehärtet. Dann folgte

die Entkalkung in 5 prozentiger Salpetersäure, der Kochsalz im Überschuß zugesetzt war. Das Stück war meistens nach 1—2 Tagen entkalkt; einige waren ohne Einlegen in Entkalkungsflüssigkeit schon knorpelig anzufühlen, so daß sie durch Auflösung des Kalkes in der Bauchhöhle entkalkt schienen. Das Stück war im Fettgewebe des großen Netzes oder im kleinen Becken in Fibrinmassen eingeschlossen.

Weil es von besonderer Wichtigkeit ist, muß ich im voraus betonen, daß ich zu meinen Versuchen nur junge Tiere verwandte. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Schnittpräparate fanden sich infolgedessen in jedem Schwanzwirbelknochen Epiphysenknorpel.

#### Experiments.

1. Kaninchen. Am 3. Tage nach der Operation durch Chloroform getötet. Der eingepflanzte Wirbelknochen ist im Fettgewebe des großen Netzes eingekapselt; die umgebenden Teile sind etwas injiziert, aber ohne deutliche Entzündung.

Mikroskopische Präparate weisen überall gut erhaltene, mit Hämatoxylin schön gefärbte Kerne der Knochenzellen auf, nur an der Peripherie der kompakten Knochenteile sieht man stellenweise einige leere Lücken der Knochenzellen. Die Epiphysenknorpel sind wohl erhalten, zeigen keine Veränderung der Kerne. Nirgends Knochenneubildung. Die Markhöhlen beider Epiphysen, in welchen Hämorrhagie und stark erweiterte Blutgefäße sichtbar sind, sind mit leicht ödematos aufgequollenen Bindegewebszellen und Fettzellen ausgefüllt. Die äußere periostale und innere medullare Oberfläche der Diaphyse ist glatt, und es zeigen sich keine Resorptionsvorgänge.

2. Kaninchen. Das Knochenstück wurde am 8. Tage herausgenommen. Mikroskopisch ist die Vitalität der Knochensubstanz vollkommen erhalten; die Kerne der Knochenzellen sind überall schön gefärbt, und es zeigen sich bei starker Vergrößerung keine Formenveränderungen, welche auf Zerfall hindeuten könnten. Weder auf der Oberfläche des Knochens noch auf der Wand der Markräume ist neugebildeter Knochen zu konstatieren, ebenso fehlen Resorptionsprozesse. Markräume und Haversische Kanälchen an den Epiphysen sind von fibrösem Markgewebe, in welchem zerfallene Blutkörperchen und Fibrinmassen enthalten sind, ausgefüllt.

3. Kaninchen. Der eingepflanzte Wirbelknochen wurde am 11. Tage herausgenommen und untersucht. Er ist etwas verkleinert. Mikroskopisch ist die Knochensubstanz im großen und ganzen am Leben. Zwischen den gut erhaltenen, schön gefärbten Kernen der Knochenzellen sieht man nur stellenweise zerstreut liegende, körnig zerfallene oder zerklüftete Kerne, sowie auch leere helle Lücken. Die Randzone des mittleren Teils der Diaphyse sieht eine Strecke lang homogen aus. Die vom fibrösen Markgewebe eingeschlossenen

Knochenbälkchen der Knochenenden erweisen sich teilweise als abgestorben. Auf der Oberfläche dieser Bälkchen und auf der Wand der Markräume oder Gefäßkanälchen liegt ab und zu wenig osteoides, neugebildetes Knochengewebe, welches von einer ein- oder mehrfachen Lage von Osteoblasten überzogen ist. Die Knochenaufklagerung ist von der alten Knochenschicht scharf abgegrenzt. In den Markräumen buchtet sich das neugebildete osteoide Gewebe in die alte Knochenschicht vor und ist in mehreren Schichten lamellös angelegt. Auf der äußeren Oberfläche der Epiphysenteile des Knochens sieht man eine beginnende Resorption mit Lakenbildung und Riesenzellen, während die übrigen Teile der Oberfläche an periostaler wie auch medullarer Seite gleichmäßig und gerade sind. Der Epiphysenkorpel ist gut erhalten, zeigt auf der Markseite eine schmale, kernhaltige Knochenschicht. Markgewebe wohl erhalten, an den Knochenenden fibrös und gefäßreich.

4. Kaninch e n. Der eingepflanzte Wirbelknochen wurde am 22. Tage herausgenommen. Die ganze Form des Knochenstückes ist wohlerhalten, aber es ist deutlich verkleinert.

Mikroskopische Präparate zeigen, daß die Knochensubstanz der Diaphysen teilweise abgestorben ist; die Kerne der Knochenzellen sind in zentraler breiter Partie der Compacta gut gefärbt, während die schmalen Randzonen gleichmäßig homogen aussehen und tingierte Kerne hier nicht zu sehen sind. Bei starker Vergrößerung sieht man in der kernhaltigen Partie eine mäßige Zahl von im Untergang begriffenen Knochenzellen, deren Kerne zerklüftet oder stark geschrumpft sind. Die meisten Kerne der Knochenzellen sind aber wohl erhalten. An beiden Epiphysen ist die Knochensubstanz eine kurze Strecke total abgestorben; auf der periostalen und medullaren Oberfläche dieser Teile findet man mehrschichtige, in die tote Knochenschicht buchtig einwachsende Knochenneubildung, in der länglich ovale oder polyedrische Kerne der Knochenzellen eingebettet sind. Diese Kerne unterscheiden sich von der alten Knochenschicht dadurch, daß sie größer und manchmal noch von reichlichem Protoplasma umgeben sind. Der Epiphysenkorpel ist ganz abgestorben, die Kerne haben ihre Färbbarkeit eingebüßt. Auf dieses tote Knorpelgewebe legen sich neugebildete Knochenmassen an. Osteoblasten stehen auf der neuen Knochenschicht in einer einfachen Lage nebeneinander reihenartig. Die Markräume resp. Innenfläche der Knochenenden werden von fibrösem Markgewebe aus gefüllt, welches von neugebildeten Kapillaren durchsetzt ist. Auf der periostalen Oberfläche der Epiphyse findet eine mäßige Resorption mit Bildung von Laken und Riesenzellen statt, während die Oberfläche der Diaphyse gleichmäßig und gerade ist.

5. Kaninch e n. Das eingepflanzte Knochenstück wurde am 32. Tage herausgenommen. Die Form des Knochens ist wohl erhalten, derselbe ist aber beträchtlich verkleinert.

Mikroskopisch zeigen die meisten Partien des Knochens schön gefärbte Kerne der Knochenzellen, an einigen Stellen erweisen sich die schmalen periostalen und medullaren Randzonen als abgestorben, während die der breiten zentralen Schicht wohl erhalten sind. Auf der Wand der erweiterten Gefäß-

kanälchen und der Markräume der Epiphysen ist geringe Auflagerung osteoiden Gewebes zu sehen, welches auf der teilweise abgestorbenen Knochenschicht dieser Teile liegt und von einer einfachen Osteoblastenlage überzogen ist. Das Markgewebe der Epiphyse besteht aus spindelförmigen jungen Bindegewebzellen mit wenigen Fettzellen, ist ziemlich gefäßreich. Der Epiphysenknorpel ist wohl erhalten. An der äußeren Oberfläche der Epiphysen sieht man spärliche Resorptionsprozesse, die übrigen Teile der Oberfläche sind gleichmäßig und glatt.

6. Kaninchen. Das eingepflanzte Knochenstück wurde am 42. Tage herausgenommen. Zwei Wirbelknochen hängen durch Fibrinmasse lose miteinander zusammen, der Knochen ist stark verkleinert, aber die Form ist noch wohl erhalten.

Die Knochensubstanz erweist sich mikroskopisch größtenteils als abgestorben. Zwischen den zerfallenen Kernen und hellen Lücken sieht man relativ wohl erhaltene Kerne der Knochenzellen. Auf der periostalen Oberfläche der Epiphysen sieht man eine mehrschichtige, knorpelig aussehende Auflagerung von osteoidem Gewebe, auf dessen Oberfläche mehrfache Lagen von spindelförmigen oder polyedrischen jungen Periostzellen (Osteoblasten) aufliegen. Auf den Knochenbalken der Markhöhle beider Knochenenden zeigt sich ebenfalls ein schmaler osteoider Saum, in welchem die Kerne in einfacher Lage eingebettet sind.

Das Mark der Epiphysen ist fibrös und gefäßreich, in den Diaphysen Fettmark mit spärlichen lymphoiden Markzellen und Riesenzellen.

7. Hund. 4 Monate alt. Nach 57 Tagen wurde das eingepflanzte Knochenstück herausgenommen. Durch Serienschnitte läßt sich nachweisen, daß die Compacta der Diaphyse durch Resorption vollständig zugrunde gegangen ist, dichtes Bindegewebe füllt diesen Defekt aus. Beide Knochenenden sind verhältnismäßig gut erhalten, auch die Epiphysenknorpel und das Markgewebe. Das Bindegewebe, welches die Stelle der durch Resorption verlorenen Diaphyse ausfüllt, geht beiderseits in eine zurückgebliebene dünne Knochenspange über, welche quer gelagert, das zellreiche Lymphmark der Knochenenden gegen das Bindegewebe abgrenzt. An einigen Stellen dieser Spange sieht man einige Lücken, durch welche junges Bindegewebe in die Markhöhle unmittelbar eindringt. Die Knochenspange erweist sich als abgestorben, enthält mehrfach erweiterte, mit Detritusmasse gefüllte Lücken von Knochenzellen. Auf der Medullarfläche dieser Spange wie auf den Balken in der Markhöhle sieht man bald einen dünnen, gleichmäßigen Saum, bald mehrschichtige, unregelmäßige Auflagerung osteoiden Gewebes. Ferner sieht man auf der Wand der erweiterten Gefäßkanälchen eine von der Markhöhle sich fortsetzende osteoide Auflagerung. Diese neugebildete Knochenauflagerung färbt sich mit Eosin tief rot, ist von der toten kernlosen Knochenschicht scharf abgegrenzt und trägt auf der Oberfläche eine einfache Lage von Osteoblasten. Typische Resorptionsvorgänge sieht man nur auf der äußeren Fläche der erwähnten Knochenspange. Das Markgewebe ist sehr gut erhalten, besteht aus Lymphmark, welches von Fettzellen und Kapillaren durchsetzt ist.

8. Hund. 2 Jahre alt. Nach 78 Tagen wurden die eingepflanzten Wirbelknochen herausgenommen. Die Knochenstücke sind im großen Netze eingeheilt, die Form ist wohl erhalten, die Knochenstücke sind aber bedeutend verkleinert und weich anzufühlen. Es wurde ohne Entkalkung in Salpetersäure geschnitten. Die Oberfläche ist rauh und sieht faserig aus.

Mikroskopisch ist die Kortikalis der Diaphyse stark verdünnt. Die Kerne der Knochenzellen in der Knochensubstanz sind überall ganz gut erhalten, zeigen keinerlei Formveränderung oder Zerfall. Die Oberfläche des Knochenstückes ist von massenhaft aufgetretenen Riesenzellen in Lakunen unregelmäßig zernagt oder von starken Lagen der jungen Periostzellen durchwachsen. Hier und da sieht man erweiterte Gefäßkanälchen in der Knochensubstanz; sie sind ebenfalls von jungen Periostzellen und Gefäßkapillaren ausgefüllt, welche unmittelbar von der Oberfläche des Knochens sich fortsetzen. Nirgends auf der Oberfläche der Knochensubstanz ist Knochenneubildung zu finden. Der Epiphysenknorpel ist im mittleren Teile abgestorben, während in dem peripherischen, dem Periost angrenzenden Teile schön gefärbte Knorpelzellen sich zeigen. Auf der medullären Oberfläche der abgestorbenen Knorpelpartie sieht man eine bald schmälere, bald breitere kernhaltige Knochenschicht. Das Markgewebe besteht aus dem zellreichen Lymphmark mit wenigen Fettzellen.

9. Hund. Etwa 1½ Jahre alt. Drei Schwanzwirbel wurden in die Bauchhöhle eingepflanzt. Nach 95 Tagen getötet. Ein Wirbelknochen ist zwischen den Bauchmuskeln und zwei sind im Fettgewebe des großen Netzes eingeheilt. Alle Stücke waren weich anzufühlen, so daß sie ohne Entkalkung nach der Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit geschnitten wurden.

a) Stücke in Bauchhöhle: Mikroskopisch sind die Diaphysen fast ganz resorbiert, wodurch beide, relativ gut erhaltenen Knochenenden einander genähert und durch eine Bindegewebsmasse verbunden sind. Man sieht an einigen Serienpräparaten eine isolierte, im Bindegewebe eingeschlossene Knocheninsel vom zurückgebliebenen Diaphysenteil. Diese Knocheninsel ist ganz abgestorben; man sieht bei starker Vergrößerung überall helle Pünktchen und vereinzelt liegende, stark geschrumpfte oder zerklüftete Kerne. Die Oberfläche ist unregelmäßig zernagt und mit Lakunen versehen, in welchen massenhafte Riesenzellen eingelagert sind. Beide Knochenenden sind verhältnismäßig gut erhalten. Die Knochensubstanz der Epiphysen ist größtenteils resorbiert, so daß stellenweise kleine, dünne, durch Bindegewebe zusammenhängende Knochenspangen das Mark der Gelenkenden in sich einschließen. Die Knochenspangen sind fast ganz untergegangen, nur zerstreut liegen spärliche noch wohl erhaltene Kerne. Auf den inneren, der Markhöhle zugekehrten Rändern dieser Knochenspange findet man einen mit Eosin stärker tingierten, dünnen, gleichmäßigen Saum neugebildeten osteoiden Gewebes, in welchem eine einfache Lage von neuen Knochenkörperchen eingelagert ist. Auf diesem Saum steht eine einfache Lage von Osteoblasten reihenartig. Dieser Saum setzt sich in die erweiterten, die Knochenspange durchsetzenden Gefäßkanälchen kontinuirlich fort; deren Lumen ist von Osteoblasten und neugebildeten Kapillaren ausgefüllt. In der Nähe der äußeren Oberfläche verschwindet der osteoide Saum auf der Wand

der Gefäßkanälchen allmählich, diese werden hier schließlich von jungen spindelförmigen Periostzellen resp. Osteoblasten ausgefüllt und gehen in die zellreiche Schicht des umgebenden Bindegewebes über. Das Markgewebe besteht aus gut erhaltenem Lymphmark, durchsetzt von Fettzellen und neugebildeten Gefäßen. Der Epiphysenkorpel ist im zentralen Teile abgestorben, so daß die Knorpelkerne blasig aufgequollen und mit Farbstoff nicht tingiert sind. Die Knorpelgrundsubstanz ist infolge von Verkalkung körnig blau gefärbt. Auf der Oberfläche dieses abgestorbenen Knorpels — eine geringe Knochenneubildung. An den äußeren Oberflächen sind überall Resorptionsprozesse mit Lakunen und Riesenzellen zu sehen, aber keine Neubildung.

b) Ein anderes in der Bauchwandmuskulatur eingeheiltes Stück verhält sich ganz gleich. Die Knochensubstanz ist ebenfalls untergegangen, geringe Knochenneubildung auf der Medullarfläche, Resorption an der Außenfläche, gut erhaltenes Markgewebe usw.

10. Kaninchen. Am 110. Tage nach der Operation ohne bekannte Ursache gestorben und etwa 6—8 Stunden nach dem Tode gefunden. Eingepflanzte Wirbelknochen in der Beckenhöhle mit zartem Fibrin eingekapselt und stark verkleinert. Die Form ist gut erhalten.

Mikroskopisch ist die Knochensubstanz überall abgestorben und verdünnt, keine tingierbaren Kerne der Knochenzellen zu finden. An beiden Epiphysen ist die Knochensubstanz eine Strecke lang vollkommen resorbiert, durch diesen Defekt dringt von außen fibrilläres Bindegewebe in die Markhöhle hinein. Auf der Medullarfläche der Epiphysen sieht man mehrschichtige, knorpelähnlich ausschuhende Auflagerung, auf deren Oberfläche massenhafte Osteoblasten aufgelegt sind. An der äußeren Oberfläche des Knochens findet man hier und da Lakunenbildungen mit eingelagerten Riesenzellen, während die Medullarfläche überall gleichmäßig und gerade ist. Das Markgewebe in den Knochenenden ist fibrös und etwas fettzellenhaltig.

11. Hund. Etwa 2 Jahre alt. Der eingepflanzte Wirbelknochen wurde am 130. Tage herausgenommen, er ist im Fettgewebe des großen Netzes eingehieilt. Die Form ist gut erhalten, der Knochen aber sehr verkleinert; die Oberfläche sieht etwas faserig aus; die Konsistenz ist knorpelig.

Mikroskopisch ist die Oberfläche des Knochens stellenweise zernagt, an einigen Stellen sieht man eine große flache Vertiefung, welche von den massenhaft in Wucherung geratenen jungen Bindegewebsszellen mit neugebildeten Gefäßen ausgefüllt ist. An anderen Stellen finden sich auch Lakunen mit Riesenzellen, aber nicht sehr ausgeprägt. Die erweiterten Gefäßkanälchen und Markräume sind von jungen osteoblastenähnlichen Bindegewebsszellen und Gefäßen ausgefüllt. Im Epiphysenteil ist die Knochensubstanz in großer Ausdehnung resorbiert, so daß an einer Stelle die ganze Knochenschicht vollkommen verschwindet und die zellreiche Periostschicht unmittelbar in das fibröse Markgewebe dieser Teile übergeht. Die Knochensubstanz der Diaphyse ist ganz abgestorben, so daß die Kerne der Knochenzellen überall als helle, längliche oder sternförmige Pünktchen anzudeuten sind. Auf der Oberfläche des Knochens, auf der Wand der erweiterten Gefäßkanälchen und der Markräume sieht man

ganz schmale gleichmäßige, mit Eosin tief rot gefärbte Säume neugebildeten osteoiden Gewebes, in welchem eine einfache Lage von neuen Knochenzellen eingelagert ist. Dieser Knochensaum grenzt sich gegen die alte kernlose Knochen- schicht, welche blaurötlich gefärbt ist, ziemlich scharf ab. Dieses Verhalten ist in Markräumen und Gefäßkanälchen deutlich ausgeprägt, während es auf der periostalen Oberfläche des Knochens manchmal von den in Wucherung geratenen massenhaften osteoblastischen Zellen verdeckt wird. Das Markgewebe und der Epiphysenknorpel sind gut erhalten.

Wenn ich die Ergebnisse der oben angeführten Versuche zusammenfasse, so ist zu betonen, daß das lebende intakte Knochenstück, welches alle Bestandteile des Knochens in sich enthält, ziemlich lange Zeit lebensfähig bleibt. Ich habe die Vitalität des Knochengewebes durch Tinktionsfähigkeit und Erhaltung der Form der Kerne der Knochenzellen festzustellen versucht, wie Barth, Larent u. a. es gemacht haben. Im 11 Tage alten Knochenpräparate traten schon mehr oder weniger sichtbare Formveränderung der Kerne der Zellen auf. Diese sind aber an Zahl nur gering und liegen zwischen den wohl erhaltenen Zellen zerstreut. Dagegen war bei Versuch VIII das ganze eingepflanzte Knochenstück am 78. Tage nach der Operation gut am Leben geblieben, so daß alle Knochenzellen überall ihre wohl erhaltenen, mit Hämatoxylin gut gefärbten Kerne zeigten. Trotz der erhaltenen Vitalität ist der größte Teil der Knochensubstanz durch Resorption verloren gegangen. Den vollständigen Untergang des ganzen Knochenstückes habe ich erst an 110—130 Tage alten Präparaten und teilweise erhaltene Vitalität der Knochensubstanz bis zum 95. Tage konstatiert.

Über die genaueren Vorgänge des in Untergang begriffenen Knochenstückes ist folgendes hervorzuheben. Die Knochensubstanz stirbt zuerst in ihren Randzonen ab; die periostalen und medullaren Oberflächen werden kernlos und homogen, färben sich mit Eosin schwach rot. Gegen die kernhaltige lebende Knochen- schicht sind sie mit scharfen, manchmal blau gefärbten Konturen abgegrenzt. Die spongiöse Knochensubstanz stirbt bei meinen Versuchen immer relativ frühzeitig ab, die Spongiosa der Knochen- enden und die Compacta der Epiphysen werden kernlos und sehen homogen aus. Der Prozeß schreitet mit der Zeit allmählich nach der Mitte hin fort. In der Schicht, wo die Kerne der Knochen-

zellen gut gefärbt sind, konnten wir auch, wie Barth angibt, bei starker Vergrößerung sehr oft schwer geschädigte Knochenzellen, deren Kerne in mehreren Bröckeln oder körnigen Detritus zerfallen sind, nachweisen. Aber solche zerfallene Kerne der Knochenzellen stehen bei meinen Präparaten nicht im Vordergrund, sondern sie liegen meistens zwischen den wohl erhaltenen oder höchstens etwas geschrumpft aussehenden Kernen in geringer Zahl zerstreut. Auf Grund dieser Befunde glaube ich behaupten zu können, daß solche Knochenschicht nicht als eine vollkommen abgestorbene, sondern eine teilweise geschädigte, aber noch lebende Zone aufgefäßt werden muß. Die nekrotische Schicht zeichnet sich immer durch homogenes Aussehen und schwache Affinität zu Farbstoffen aus und wird von der lebenden kernhaltigen Schicht gewöhnlich mit scharfem Kontur abgegrenzt.

Beim Versuch VIII (78 Tage) war die ganze Knochenschicht überall am Leben geblieben, trotz der vollkommen erhaltenen Vitalität ist aber das Knochenstück größtenteils durch Resorption verloren gegangen. Daraus darf man schließen, daß das implantierte Knochenstück in günstigsten Fällen lebend resorbiert wird. Wenn solches in einen Knochendefekt transplantiert würde, so könnte es auch vorübergehend im Mutterboden in lebendem Zustand einheilen, würde aber schließlich doch resorbiert werden.

Knochenneubildung habe ich bei den meisten meiner Versuche konstatiert. Sie findet stets an der periostalen und medullaren Oberfläche der Epiphysenteile, ferner auf den Knochenbalken der Knochenenden und an der Wand der Markräume und der erweiterten Haversischen Kanälchen statt. Am frühesten konnte ich mich am 11 Tage alten Präparate von einer geringen Knochenauflagerung überzeugen. Man wird leicht dazu geführt, die neugebildete Knochenauflagerung auf der toten, kernlosen Knochenschicht als eine zentral abgestorbene und peripherisch lebende Schicht aufzufassen. Bei der Untersuchung mit starkem System ist aber diese neugebildete Knochenmasse von der alten abgestorbenen Schicht gewöhnlich ziemlich scharf abgegrenzt. Die Konturen sind entweder geradlinig oder zeigen vielfache Einbuchtungen in die alte Schicht. Die letztere Art der Knochen-

anlagerung geschieht meistens an der Wand der Gefäßkanälchen oder der Markräume. Auf der Oberfläche der Epiphysenteile sah ich in meinen Präparaten gewöhnlich eine knorpelähnlich ausschuhende, osteoide Gewebslage von unregelmäßiger, mehrschichtiger Gestalt, die Oberflächen werden von massenhaften Osteoblasten, welche ohne scharfe Grenze allmählich in die umgebenden Bindegewebsszellen übergehen, überzogen. In anderen Stellen ist die neugebildete Knochenschicht schmal und gleichmäßig saumartig angelegt, die Kerne sind in einfacher Lage eingelagert und größer als die der alten Knochenzellen. Osteoblasten reihen sich auf solchem Saum in einer Reihe zierlich nebeneinander und setzen sich durch die die Knochensubstanz durchziehenden Gefäßkanälchen in die zellreiche innere Periostschicht der äußeren Oberfläche kontinuierlich fort. Merkwürdigerweise konnte ich bei keinem meiner Versuche die Neubildung auf der Oberfläche der Diaphyse konstatieren, ferner ist die Knochenaufklagerung stets auf der toten Knochenschicht der Epiphyse vor sich gegangen. Diese Erscheinung möchte ich folgendermaßen erklären: die Knochensubstanz der Epiphysen ist jüngeren Ursprungs und weniger resistent gegen die durch Ablösung des Knochenstückes bedingte Anämie, stirbt leichter ab als die ältere Knochensubstanz der Diaphyse, aber die Epiphyse ist reicher an den knochenneubildenden Zellen als die Diaphyse, hat daher die Fähigkeit, osteoide Knochenaufklagerung zu produzieren.

Die Resorption geschieht an einigen Stellen durch massenhaft auftretende Riesenzellen mit Lakunenbildungen. An solchen Stellen sieht man in Wucherung geratene junge Bindegewebsszellen und zugleich neugebildete Gefäßkapillaren. Dieses junge Bindegewebe dringt in die Markräume und die erweiterten Gefäßkanälchen ein. Diese Art der Resorption findet häufigstens am Epiphysenteil statt. In den meisten Präparaten ist die periostale und medullare Oberfläche der Diaphyse gewöhnlich gleichmäßig und zeigt gerade Ränder, obwohl die Knochenschicht stark verdünnt erscheint. Man kann also hier die Resorption ohne Lakunenbildung und Riesenzellen annehmen, was von Busch<sup>1)</sup> glatte Resorption genannt wurde.

<sup>1)</sup> Busch, zitiert nach Kaufmanns Lehrbuch der speziellen path. Anatomie 1907, Seite 628.

Der Epiphysenknorpel, welchen ich bei allen eingepflanzten Wirbelknochen meiner Versuchstiere gefunden habe, lebt bedeutend länger als die Knochensubstanz, aber er stirbt schließlich mit oder ohne Verkalkung ab. Das Markgewebe bleibt so lange unverändert, wie es vom umgebenden Bindegewebe durch eine Scheidewand von Knochen oder Knorpel abgetrennt liegt. An der Stelle, wo eine solche Scheidewand durch Resorption verloren ist, dringt die fibröse Gewebsmasse in die Markhöhle hinein; das Markgewebe wird dann fibrös. Im Gegensatz zu Barth's Resultaten lebte das Mark bei unseren Versuchen am längsten. Jedenfalls befanden sich in die Bauchhöhle eingepflanzte Wirbelknochen unter guten Lebensbedingungen, so daß mir Ollier's<sup>1)</sup> Annahme unbegründet schien, daß die Vitalität der verschiedenen Körpergewebe von der Ernährung durch spezifische Gefäße und spezifische Gewebsflüssigkeit abhängig ist. Denn das eingepflanzte Knochenstück blieb in der Bauchhöhle der Versuchstiere eine ziemlich lange Zeit am Leben, so daß es manchmal fast bis zur vollkommenen Resorption leben konnte.

Unsere Befunde lehren also, daß das eingepflanzte, vollkommen abgelöste Knochenstück, wenn es seine integrierenden Bestandteile (Periost und Mark) in sich hat und mit aller Vorsicht und Schonung entnommen wird, eine lange Zeit am Leben bleiben und günstigenfalls vorübergehend mit Erhaltung der Vitalität in Knochendefekt einheilen kann. Da aber solches Stück bei meinen Versuchen keine Funktion in Anspruch nahm, so geht es natürlicherweise nach Ablauf einer Zeit allmählich unter, wenn auch eine geringe Knochenneubildung aus den miteingepflanzten Periost- und Markzellen stattfinden kann.

Meine Präparate zeigen ferner, daß jede Schädigung des Knochens vermieden werden muß, welche seine Ernährung beeinträchtigen kann. Deshalb muß erstens darauf geachtet werden, daß das Periost auf dem Knochenstück erhalten bleibt; zweitens, daß der Knochen nicht durch Meißel und Hammer mechanisch lädiert wird. Wie bekannt, wird der Knochen physiologisch vom Periost aus ernährt, daher wird die Abschabung und die Ablö-

<sup>1)</sup> Ollier, zitiert nach Barth, Zieglers Beiträge, Bd. 18, S. 65.

sung des Periostes das Knochenstück in seiner Vitalität schwer schädigen. Bei der Ausmeißelung des Knochenstückes entstehen feine Fissuren und zackige, unregelmäßige Ränder als unvermeidliche Folgen. Solche feinen, makroskopisch kaum sichtbaren Fissuren können entweder die ganze Ausdehnung des Stückes durchsetzen, oder häufiger auf die Ränder beschränkt sein. Außerdem wird die Bearbeitung mit Meissel und Hammer auf die feste Knochensubstanz eine heftige Erschütterung im Stücke ausüben. Durch diese Erschütterung und Fissurbildungen werden die Zellbestandteile, welche in der Knochengrundsubstanz oder in den Markräumen und Gefäßkanälchen enthalten sind, mehr oder weniger mechanisch geschädigt. Es ist also bei der Operation der Knochentransplantation, wie ich in meiner Arbeit<sup>1)</sup> „Über die Knochentransplantation bei ausgedehntem Diaphysendefekt der langen Röhrenknochen“ erwähnt habe, eine Durchsägung der ganzen Schicht der Compacta an allen Seiten mittelst der Kreissäge und die Miteinbeziehung des Periostes und des Markes im Stücke zu empfehlen.

Das Versuchsergebnis von Bonome, daß das von Periost und Mark entblößte Knochenstück, welches im Rückenmuskel einer Ratte eingepflanzt wurde, aus seinen Knochenzellen Knochengewebe erzeugt, konnte ich bei meinen Versuchen nicht bestätigen. Denn meine Versuche ergaben, daß die Knochenzellen in der Knochensubstanz keine Neubildungskraft besitzen, sondern immer zum Zerfall neigen. Auch findet die Knochenauflagerung auf der toten Knochenschicht statt. Die Knochenneubildung muß also immer von den Periostzellen der inneren Schicht und den Markzellen aus stattfinden.

#### S c h l u ß f o l g e r u n g e n :

1. Ein in die Bauchhöhle transplantiertes, unversehrtes Knochenstück kann bis zum 95. Tage teilweise am Leben bleiben.
2. Solche teilweise erhaltene Vitalität des Stückes hat einen günstigen Einfluß auf die Einheilung; das Stück kommt frühzeitig zu Verwachsung mit dem umgebenden Gewebe.
3. Die Resorption des implantierten Knochenstückes geschieht gewöhnlich unter dem Auftreten von Riesenzellen und Lakunen.

<sup>1)</sup> Sie ist in der Deutschen Zeitschrift für Chirurgie Bd. 90 publiziert.

Es kommt aber auch eine sogenannte glatte Resorption vor; bei meinen Präparaten fand ich diese Art der Resorption besonders an der Oberfläche der Diaphyse des Stückes.

4. Die Knochenzellen selbst haben keine Fähigkeit zur Knochenneubildung. Sie geschieht stets aus Periost- und Markzellen.

5. Für die Transplantation ist die Entnahme eines Knochenstückes mit allen ernährenden Bestandteilen (Periost und Mark) zu empfehlen.

6. Der Epiphysenknorpel und das Mark leben länger als die Knochensubstanz.

---

## VII.

### Zur Frage der Regeneration in einem dauernd von seinem Zentrum abgetrennten peripherischen Nervenstumpf.

(Aus der psychiatrischen Klinik des Herrn Prof. A. Pick in Prag.)

Von

Dr. Alexander Margulies,

I. Assistenten der Klinik.

(Hierzu Taf. IV u. V.)

---

Durch Jahrzehnte unbestritten brachte das Waller'sche Gesetz die herrschenden Anschauungen über das Wesen der Degeneration und Regeneration des Nerven zum Ausdruck. Durch zahlreiche Versuche immer wieder bestätigt, hatte es allmählich dogmatische Bedeutung gewonnen. Und als Waldeyer im Jahre 1891 vorwiegend auf Grund der mit der Golgi-Methode ermittelten Befunde die Neurontheorie aufstellte, war neben der Lehre von der unizellulären Entwicklung der Nerveneinheiten das Waller'sche Gesetz eine der Hauptstützen der neuen Lehre. Die vollkommene Abhängigkeit des Nerven von dem Zentrum, wie sie in dem Waller'schen Gesetz zutage tritt, erscheint auch ausreichend begründet in der Auffassung, daß der Nerv oder wenigstens der funktionell wichtigste Teil desselben nur ein Ausläufer der Ganglienzelle ist, der in allen seinen vitalen Eigenschaften immer von ihr abhängig bleibt. Diese anscheinend vollkommen befriedigende Erklärung hatte auch zur weiteren Folge, daß man