

(Aus dem biologischen Laboratorium des Institutes Holzknecht, Wien
[Leiter: Dr. Franz Freund].)

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Callusbildung.

Von
Shuichi Fukase (Tokio).

Mit 19 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 15. November 1929.)

Entwicklung und Wachstum erleiden durch Röntgenbestrahlung einschneidende Veränderungen. Über die Vorgänge, die sich beim wachsenden Knochen abspielen, geben die grundlegenden Versuche von *Perthes* (1903) Auskunft, der bereits in den ersten Jahren der Anwendung der Röntgenstrahlen ihren hemmenden Einfluß beobachtet hat. Er machte beim Hühnchen die Feststellung, daß durch die Bestrahlung eines Flügels dieser in der Entwicklung zurückbleibt. *Tribondeau* und *Récamier* stellten an den Extremitäten junger Säugetiere gleichsinnige Beobachtungen an.

Daß die Regeneration des erwachsenen Knochens durch Bestrahlung gleichfalls gestört wird, ergibt sich aus den Berichten über Spätnekrosen nach Bestrahlungen zu Heilzwecken (*Regaud*). Über die wachstums-hemmende Wirkung bei der Wiederherstellung im Verlaufe der Heilung von Knochenbrüchen liegen Untersuchungen von *Salvetti*, *Cluzet*, *Tamann* vor. Nach *Salvetti* tritt nach Bestrahlung mit großen Gaben eine Verzögerung der Verknöcherung ein, wobei die Knochenbälkchen schmäler sind, als dies gewöhnlich der Fall ist, jedoch kalkreicher, und ferner finden sich gehäuft Knorpelzellen vor. Nach *Cluzet* erfolgt die knöcherne Vereinigung der Bruchstücke gleichfalls später, sowohl wenn man vor, als auch wenn man nach Setzung des Knochenbruches bestrahlt. Diese Ergebnisse haben den Gedanken nahegelegt, im Sinne des *Arndt-Schultzschen* Gesetzes die Callusbildung mit kleinen Dosen anzuregen (*M. Fraenkel*, *Esser*, *Kohler*). Obzwar eine wachstumsfördernde Wirkung kleiner Röntgenlichtmengen bisher weder an tierischen noch pflanzlichen Zellen bewiesen werden konnte, hat die mit schwachen Gaben vorgenommene Bestrahlung beim Menschen eine sichtbar günstige Wirkung auf den Heilungsverlauf gezeigt. Bei der praktischen Bedeutung, die der experimentellen Beeinflussung der Knochenheilung zufällt, erscheint

es gerechtfertigt, neuerliche Untersuchungen über die sich dabei an den Zellen abspielenden Einzelheiten anzustellen, zumal die bisherigen Angaben widersprechend lauten. So konnte *Albee* einen hemmenden oder fördernden Einfluß auf die traumatisch bedingte Knochenneubildung durch Röntgenbestrahlung nicht feststellen, während *W. Miller* auch bei kleinen Dosen eine wachstumshemmende Wirkung zu beobachten glaubte. Die Ursache der Widersprüche mag auch zum Teil in den vielumstrittenen Fragen der Knochenpathologie zu suchen sein, die bisher noch zu keiner einheitlichen Auffassung über die anatomischen Vorgänge bei der Verknöcherung geführt haben. Es muß hervorgehoben werden, daß eine reichliche Callusbildung keineswegs erstrebenswert sein muß, da die rasche Heilung der Knochenwunde hiervon nicht allein abhängig ist. Es kann zur schnellen knöchernen Vereinigung der Bruchstücke auch dann kommen, wenn die Callusbildung gering ist, und sie kann bei reichlicher Callusbildung verzögert sein (*Holzknecht*). Das geht auch aus dem Bestreben der Chirurgie hervor, möglichst genaue Anpassung der Bruchstücke vorzunehmen, da auf diese Weise am schnellsten die knöcherne Vereinigung erreicht wird. Je weniger die Bruchenden verschoben sind, um so geringer ist die Menge des sich bildenden Callus, während sie bei starker Verschiebung im allgemeinen reichlicher zu sein pflegt, wenn nicht hohes Alter oder innersekretorische Störungen dem entgegen wirken. Die Knochenheilung ist eben ein Vorgang, bei dem mannigfaltige Umstände mitspielen, und nur deren allseitige Betrachtung kann vor Fehlschlüssen bewahren.

Unter diesem Gesichtspunkt wird auch der Frage nach der Herkunft der knochenbildenden Zellen besonderes Augenmerk zuzuwenden sein, da das die Zellentwicklung beeinflussende Wirken der Strahlen neue, bisher kaum berücksichtigte Ergebnisse erwarten läßt. Ob der neu zu bildende Knochen ausschließlich von spezifischen Zellen, Periost- oder Endostzellen, gebildet wird, oder ob alle Bindegewebsszellen zur Knochenbildung befähigt sind, ist noch unentschieden. *Billroth* war der Meinung, daß die Callusbildung der Hauptsache nach eine *Wundentzündung* sei, eine Ansicht, die neuerdings von *Maas*, *Petrow*, *Policard*, *Simon* in dem Sinne vertreten wird, daß allen sich an der örtlichen Reaktion beteiligen den Bindegewebsszellen knochenbildende Fähigkeit zugeschrieben wird. *Krafft* und neuerdings *Rhode* lehnen jedoch jede Beteiligung der Wundgranulationen an der Regeneration des Knochens ab und machen für diese ausschließlich spezifische Zellen, insbesondere die der Knochenhaut verantwortlich. Die experimentellen Untersuchungen von *Sacerdotti* und *Frattin*, die durch Abbindung der Nierenarterie echte Verknöcherung in der Niere erzielt haben, beweisen, daß es auch ohne Periostzellen zur Knochenbildung kommen kann. Es entspricht dies den vielfältigen Erfahrungen, daß bei Mensch und Tier in allen Organen, zumeist nach entzündlichen Vorgängen, Verknöcherungen auftreten können. *Lubarsch*

sagt, daß angesichts dieser Tatsachen nur eine vorgefaßte Meinung dazu führen könne, daß Vorkommen echter Metaplasie von Knochen aus Bindegewebe im Sinne *Virchows* durch Verkalkung der Grundsubstanz abzulehnen. Auch die stammes- und Entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen *Weidenreichs* haben ergeben, daß der Bindegewebsknochen der ursprüngliche ist und vom lamellen Knochen stets in der Weise ersetzt wird, daß Gefäße auftreten, um die herum Osteoblasten einen den mechanischen Beanspruchungen angepaßten Knochen abzulegen.

Bei der in neuerer Zeit beobachteten Empfindlichkeit des Granulationsgewebes Röntgenstrahlen gegenüber kommt den Untersuchungen über die Beteiligung der Granulationszellen an der Knochenneubildung für die vorliegende Arbeit besondere Bedeutung zu. Es ergeben sich daraus folgende engere Fragestellungen:

1. In welcher Weise beeinflussen Röntgenstrahlen das knochenbildende Gewebe im Anschluß an Knochenbrüche?
2. Sind aus den sich hierbei ergebenden Veränderungen Schlüsse auf die Herkunft der knochenbildenden Zellen zu ziehen?

Material und Methoden.

Bereits *Bonome* (1885) hebt hervor, daß mikroskopische Untersuchungen des Callus *in situ* mit den umliegenden Weichteilen angestellt werden müssen. Es versteht sich von selbst, daß bei der Knochenneubildung, die über die ursprünglichen Grenzen des unversehrten Knochens hinausreicht, das Gewebe in seiner Gesamtheit soweit untersucht werden muß, wie die Zellneubildung vor sich geht. Ferner ist es notwendig, daß die Untersuchung bereits in den ersten Stunden und Tagen vorgenommen wird, da die unter keimfreien Bedingungen verlaufenden traumatisch entzündlichen Erscheinungen sich in diesem Zeitraum abspielen. Nach dem fünften Tage zeigt das entzündlich veränderte Gewebe gewöhnlicherweise nur mehr Wiederherstellungs vorgänge. Es müssen daher Untersuchungen, die zu der Frage der Bedeutung der örtlichen Reaktion bei der Knochenwundheilung Stellung nehmen, in den ersten Tagen angestellt werden.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden bei 84 jugendlichen Kaninchen an beiden Fibulae im mittleren Drittel subcutane Brüche gesetzt, um unter keimfreien Bedingungen arbeiten zu können. Da beim Kaninchen die Fibula spangenartig mit der Tibia vereinigt ist, erübrigt sich zur Ruhigstellung des verletzten Knochens ein ruhigstellender Verband. Die Bestrahlung der Bruchstelle erfolgte auf einer Seite unmittelbar nach der beiderseits in Narkose ausgeführten Verletzung.

Um zu erfahren, ob Röntgenstrahlen eine sichtbare Wirkung — sei es im Sinne einer Hemmung oder im Sinne einer Förderung der Zellfunktionen — ausüben, wurde eine sehr große Röntgendiffusions verabfolgt, die zu Heilzwecken nicht Verwendung findet, da die menschlichen Gewebe erfahrungsgemäß eine so starke Bestrahlung nicht ohne Schädigung vertragen. Es wurden 32 H (1600 R) zinkgefilterter Strahlung zu je 8 H (400 R) an vier aufeinanderfolgenden Tagen in verteilten Dosen verabreicht. Nachdem hierbei deutliche Gewebsveränderungen in Erscheinung

traten, ohne daß die Versuchstiere einen nachweisbaren Schaden an ihrer Gesundheit oder weiteren Entwicklung des Skeletes davongetragen hätten, wurden weiterhin mittlere Strahlendosen gewählt, wie sie auch zu Heilzwecken Anwendung finden. Erwähnenswert ist, daß die zu beschreibenden Ergebnisse nur bei besonders *kurzwelliger Röntgenstrahlung* mit Regelmäßigkeit hervorgerufen wurden. Es spricht dies dafür, daß bestimmte Wellenlängen der strahlenden Energie, abgesehen von ihrer Aufnahme durch das Gewebe für bestimmte biologische Erscheinungen verantwortlich zu machen sind, weshalb bei strahlenbiologischen Untersuchungen, um widersprechende Ergebnisse zu vermeiden, wohl mit den gleichen Wellenlängen gearbeitet werden sollte. Die ausführliche, auf experimentelle Beobachtungen gestützte Begründung hierfür ist einer gesonderten Veröffentlichung vorbehalten¹.

Zur Erzeugung des Lichtes von der gewünschten Wellenlänge wurde ein Glühventilapparat mit Kondensatoren verwendet, die Voltzahl betrug 170 000, die Röntgenstrahlen wurden durch 0,5 mm Zink gefiltert. Die in 15 Minuten erreichte Dosis betrug 8 H (400 R), was einer 75%igen Hauterythemdosis entspricht.

Die Überprüfung der Ergebnisse wurde in dreifacher Weise vorgenommen: mikroskopisch nach 8, 16, 24, 36, 48 Stunden, sowie nach 3, 5, 7, 10 und 14 Tagen, ferner nach 3, 4, 5 und 7 Wochen; makroskopisch und röntgenologisch wurde der Verlauf der Knochenheilung fortlaufend beschrieben. Bei allen drei Untersuchungsmethoden wurde stets die andere Extremität des gleichen Tieres als Vergleichsgegenstand gewählt. Zum Zwecke der mikroskopischen Untersuchung wurde der gesamte Unterschenkel der Tiere in Kaliumbichromat-Sublimat-Formol-Eisessig nach Kolmer fixiert und die Paraffinschnitte mit Hämatoxylin-Eosin und nach Giemsa gefärbt, bei welch letzterer Methode die Schnitte nicht dicker als 5 μ sein dürfen. Die Schnitte betrafen zumeist den Querschnitt des Unterschenkels, zum Teil auch den Längsschnitt.

Ergebnisse.

Bei der Bestrahlung mit großen Dosen zeigt sich bei fortlaufender *Röntgenuntersuchung*, daß die knöcherne Vereinigung der Bruchstücke gegenüber der unbestrahlten Seite deutlich zurückbleibt. Während nach 14 Tagen gewöhnlich bereits im Röntgenbilde ein kalkhaltiger Callus nachweisbar ist, tritt er nach der Bestrahlung erst eine Woche später auf, um sich im weiteren Verlaufe reichlicher als normal zu entwickeln. Die Menge des Callus ist nach der dritten Woche im bestrahlten Bereich durchwegs größer als an der unbestrahlten Bruchstelle, doch ist die Heilung, kenntlich an dem früher erreichten, dem gewöhnlich ähnlich strukturierten Knochenbild, im unbestrahlten Bereich früher abgeschlossen.

Die *makroskopische* Untersuchung der Knochen an den getöteten Tieren entspricht den Röntgenbefunden völlig. Bis zum Ende der dritten Woche ist der bestrahlte Callus weich und elastisch, nach diesem Zeitpunkte kommt es zu mit bloßem Auge sichtbarer starker Gefäßneubildung und zur Festigung durch Kalkeinlagerung.

Die *mikroskopische* Betrachtung nach 14 Tagen zeigt, daß auf der unbestrahlten Seite die Regeneration des Knochens unter Bildung zahlreicher Knochenbalkchen und Knorpelgewebe ihren gewohnten Verlauf nimmt (Abb. 1). An Stelle der Knochenbalkchen findet sich im bestrahlten Gewebe, etwa der gleichen Ausdehnung entsprechend, ein

¹ Strahlenther. 84, 1930.

dichtes, wenige Zellen enthaltendes Bindegewebe. Die Zellen weisen eine weitgehende Ähnlichkeit mit Knochenzellen auf, indem sie zackig begrenzt sind (Abb. 2 und 3). Außerdem finden sich noch Reste der alten Blutung vor. Von der sonst bei diesen Tieren im Verlaufe der Knochenheilung in der Membrana interossea auftretenden Knorpel- und Knochenneubildung ist nichts zu sehen. Die eine Woche später einsetzende Verknöcherung geht in der Weise vor sich, daß in dem derben

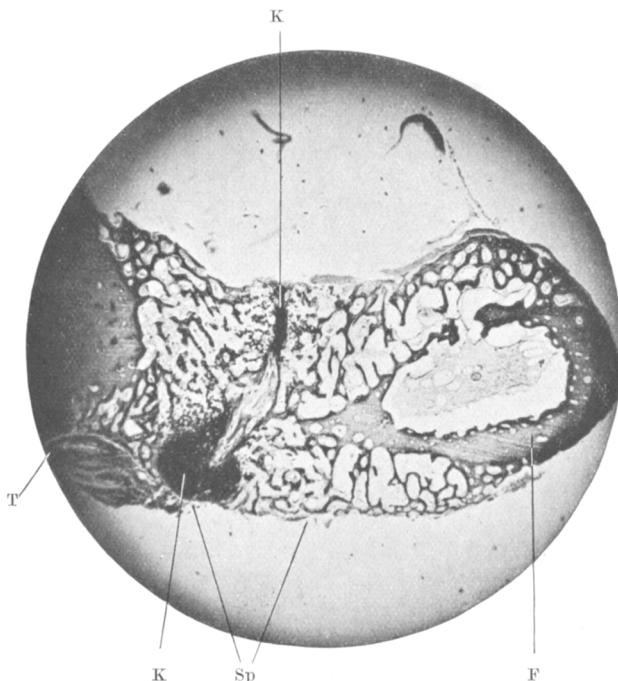


Abb. 1. (Lupenvergrößerung.) Knochenregeneration 14 Tage nach der Fraktur auf der unbestrahlten Seite. (F) Fibula, (T) Tibia, (Sp) Spatium interosseum, (K) Knorpelzellen.

gefäßarmen Bindegewebe reichlich stark gefüllte Gefäße auftreten, um die herum Knochenbällchen durch die Tätigkeit knochenbildender Zellen entstehen (Abb. 4). Während um diese Zeit an der unbestrahlten Bruchstelle der vorläufige Callus allmählich abgebaut zu werden pflegt, wuchert er hier, entsprechend der starken Gefäßneubildung, und bleibt wohl aus diesem Grunde in bezug auf seine endgültige Form in der Entwicklung zurück, so daß die Heilung verzögert erfolgt.

Nachdem auf diese Weise die hemmende Wirkung der Röntgenbestrahlung insoferne bestätigt werden konnte, als eine Verzögerung der Verknöcherung bei sehr großen Dosen eintrat, wurde an die Bestrahlung im therapeutischen Dosisbereich geschritten, wobei 8 H (400 R) zinkgefilterter Strahlung verabfolgt wurde.

Da vor Ablauf der zweiten Woche weder *röntgenologisch* noch *makroskopisch* Veränderungen der Knochenwunde deutlich in Erscheinung treten, wurde in diesem Zeitraum die Untersuchung auf die mikroskopischen Einzelheiten beschränkt. Es wurde auch die Knochenneubildung auf der unbestrahlten Vergleichsseite eingehend untersucht, da viele Fragen auf diesem Gebiete noch keinen Abschluß gefunden haben. Da die experimentelle Erforschung der Verhältnisse bei der

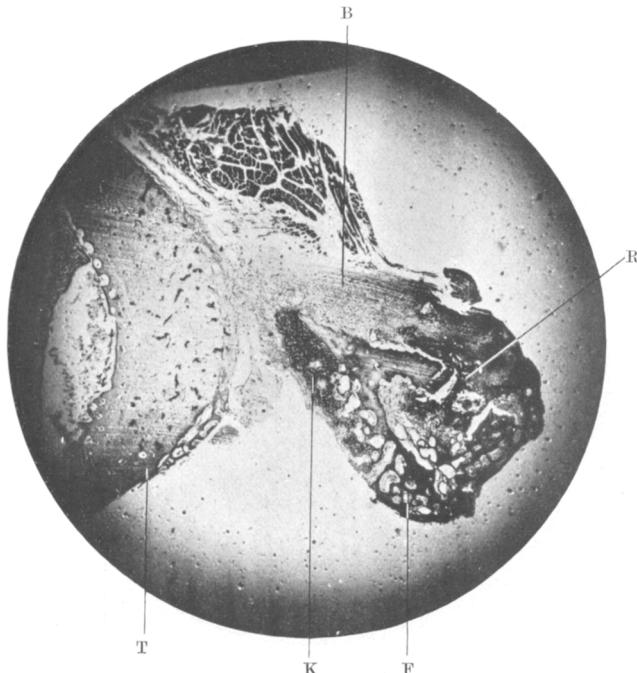


Abb. 2. (Lupenvergrößerung.) Knochenregeneration 14 Tage nach der Fraktur auf der bestrahlten Seite. (Dosis 32 H = 1600 R.) (F) Fibula, (T) Tibia, (B) derbes Bindegewebe auf der der Röntgenröhre zugekehrten Seite, (K) Knorpelzellen auf der der Röhre abgekehrten Seite, (R) Reste der Blutung.

Knochenheilung eine Stellungnahme zu den anatomischen Grundlagen erfordert, erschien es bei den widerstreitenden Auffassungen über die Knochenbildung gerechtfertigt, sich durch neuerliche Feststellungen ein Urteil über die strittigen Punkte zu bilden. Die *in situ* vorgenommene Untersuchung der Bruchstücke unter den obigen günstigen Bedingungen der mikroskopischen Technik hat dabei auch vielfach die lichtbildmäßige Wiedergabe bisher nur durch die Beschreibung bekannter Zellvorgänge gestattet.

In den ersten Stunden nach der Verletzung beherrscht die Blutung das Bild. Ihr kommt nach *Bier* als Nährboden für die Regeneration des Knochens eine besondere Bedeutung zu, was jedoch von *Lexer*,

Kauffmann, Hildebrand bestritten wird. Die Knochenhaut wird streckenweise abgehoben, die Zellen werden vielfach auseinander gedrängt, das Knochenmark und der umliegende Blutgefäßbindegewebsapparat aufgelockert. Zwischen den Blutzellen sieht man nach 16 Stunden zarte Fibrinfäden, die bis zu 48 Stunden ständig an Dicke zunehmen. Die weißen Blutzellen sind, soweit es die rundkernigen betrifft, gut erhalten nachweisbar, während die segmentkernigen einer fortschreitenden

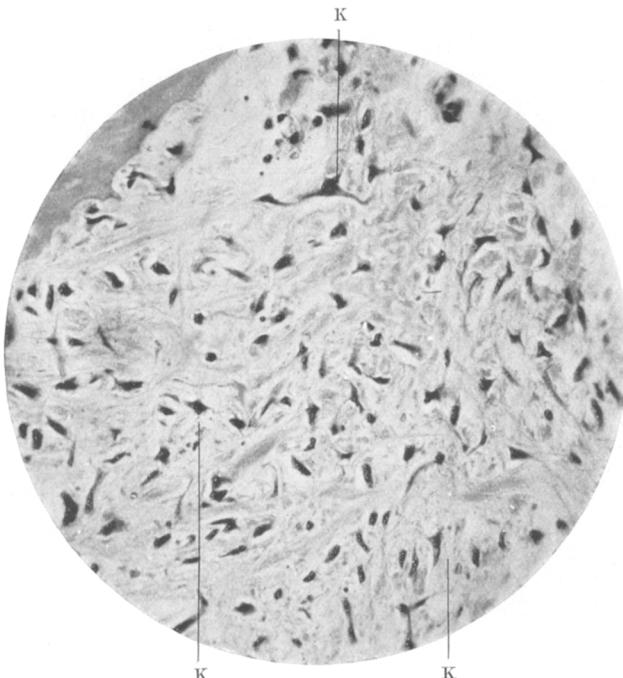


Abb. 3. (Reichert; Apoch. 4 mm¹.) Knochenregeneration auf der mit 32 H (1600 R) bestrahlten Seite nach 14 Tagen. Bindegewebiger Callus, dessen Zellen zackig begrenzt sind wie Knochenzellen (K).

Zellzerstörung verfallen sind. Ein wesentlicher Unterschied gegenüber der bestrahlten Seite ist nicht vorhanden, was deshalb hervorgehoben zu werden verdient, weil vielfach angenommen wurde, daß alle weißen Blutzellen unter der Wirkung der Röntgenstrahlen zerfallen.

Nach 36 Stunden sieht man ein weitverzweigtes Fibrinnetz, ihm angelagert, zum Teil in Gruppen verteilt, einkernige Rundzellen, die aus der Blutung stammen. Die Periostzellen sind stark auseinander gedrängt, ihre Kerne sind heller und größer geworden, die Zellen haben vielfach ihre Bindung mit den übrigen verloren und sind den

¹ Wo das Okular nicht vermerkt ist, wurde der Reichertsche mikrographische Aufsatzapparat Type 9×12 verwendet.

Rundzellen der Blutung ähnlich geworden, deren Kerne gleichfalls an Größe zugenommen haben. Die Wand der zwischen Tibia und Fibula verlaufenden Venen ist stark aufgefasert, die Gefäßwandfibrocyten zeigen alle Übergänge zu freiwerdenden Wanderzellen. Bereits jetzt ist ein deutlicher Unterschied gegenüber der bestrahlten Seite nachweisbar, indem im bestrahlten Bereich diese Reaktion der Gefäßwandzellen fast völlig ausbleibt.

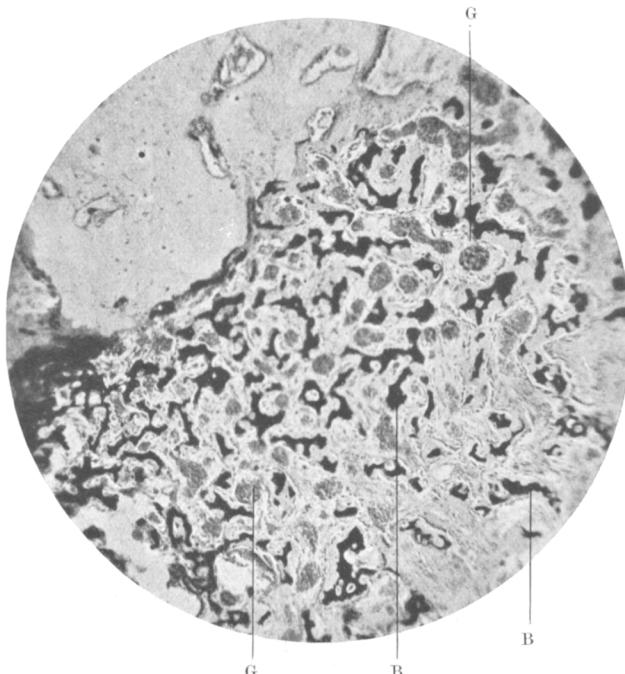


Abb. 4. (Reichert: Apoch. 16 mm.) Knochenregeneration auf der mit 32 H (1600 R) bestrahlten Seite nach 3 Wochen. Auftreten zahlreicher stark gefüllter Gefäße im bindegewebigen Callus (G). Basophile Grundsubstanz (B).

Nach 48 Stunden hat das Fibrinnetz seine größte Dicke erreicht, es dient sichtlich, wie es in Auspflanzungen der Fall ist, den auswachsenden Zellen als vorübergehendes Stützgerüst. So weit die Blutung reicht, hat die örtliche Reaktion eingesetzt. An ihr beteiligen sich alle Zellen, mit Ausnahme der Knochenzellen. Es ist schwer zu entscheiden, welche Rundzellen aus den örtlichen Zellen hervorgegangen sind und welche von den Rundzellen der Blutung stammen. Da an den weißen Blutzellen keinerlei Absterbevorgänge außer bei den segmentkernigen zu beobachten sind, kann wohl angenommen werden, daß an dem entstehenden Granulationsgewebe die einkernigen weißen Blutzellen Anteil haben. Dieser Schluß ist schon deshalb gerechtfertigt, weil in Aus-

pflanzungen unter ähnlichen Wachstumsbedingungen, gleichfalls rundkernige Leukocyten, die Fähigkeit der Weiterentwicklung besitzen, wie vielfach nachgewiesen wurde (*Maximow, Carell und Ebeling, A. Fischer*).

Im Zuge dieser Wucherungsvorgänge machen sich weitere bemerkenswerte Unterschiede zwischen der bestrahlten und unbestrahlten Seite geltend. *Auf der bestrahlten bewahren die örtlichen Bindegewebszellen weitgehend die Spindelform oder sie nehmen, sofern es die Rundzellen*

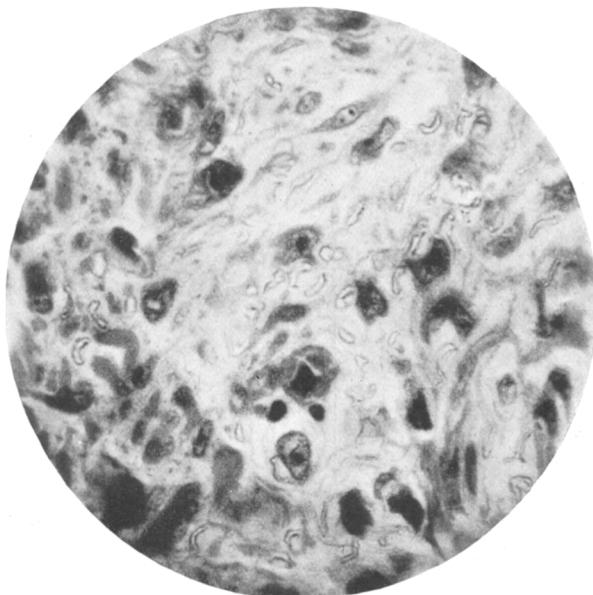


Abb. 5. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Granulationsgewebe auf der unbestrahlten Seite
3 Tage nach dem Bruch.

der Blutung betrifft, spindelige Formen an. Es ist dies bei der verabfolgten Art der Röntgenstrahlung ein so regelmäßiges Vorkommnis, daß es als gesetzmäßig bezeichnet werden kann. Seien es die Zellen der Knochenhaut, des Markes, des umliegenden Bindegewebes, der Wand der Haversschen Gefäße, stets ist ein deutlicher Unterschied gegenüber der unbestrahlten Seite in diesem Sinne nachweisbar (Abb. 5 und 6).

Am dritten Tage hat die Bildung von Rundzellen aus den örtlichen Zellen, soweit sie durch die Bestrahlung nicht unterdrückt wurde, ihr Ende gefunden, und nunmehr beginnen sich die vorhandenen Rundzellen zu Spindelzellen rückzubilden. Auf der bestrahlten Seite ist dies entsprechend dem Umstande, daß die Rundzellenbildung weniger weit gediehen ist, in verstärktem Maße der Fall. Einer bindegewebigen Umwandlung unterliegt auch das Knochenmark, in welchem auf der

bestrahlten Seite Parenchymzellen kaum mehr auffindbar sind, während sie auf der unbestrahlten, wenn auch spärlich, vorkommen. Wenn es auch denkbar wäre, daß es sich entsprechend dem Fortschreiten der Markfibrose von der Peripherie gegen das Zentrum um eine Wucherung des Endosts handelt, so zeigen doch die Zellbilder, daß die jugendlichen Parenchymzellen des Markes selbst eine Umwandlung in Fibrocyten

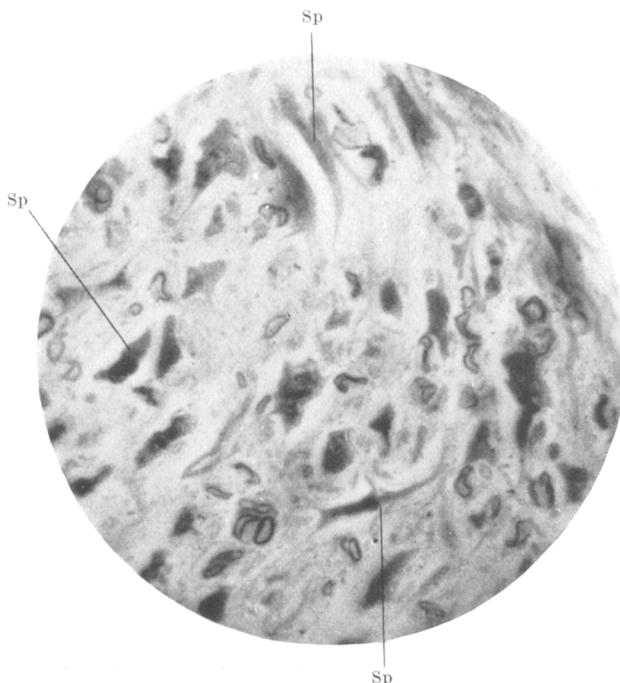


Abb. 6. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Granulationsgewebe auf der bestrahlten Seite, 3 Tage nach dem Bruch. Die Spindelzellformen (Sp) überwiegen.

erfahren, ein Vorgang, der bereits in Auspflanzungen beschrieben wurde (*Hirschfeld, Auvrow und Timofejewsky*).

Nach 5 Tagen kommt es auf der bestrahlten Seite zwischen den Spindelzellen zum reichlichen Auftreten von Bindegewebsfasern, die im unbestrahlten Gewebe nur sehr spärlich vorhanden sind (Abb. 7 und 8). In diesem Zeitpunkte bilden sich innerhalb des Granulationsgewebes zahlreiche Knorpelzellen, die im bestrahlten Gebiete gegenüber Spindelzellen in den Hintergrund treten (Abb. 9 und 10). Eine Abgrenzung der Zellen nach ihrer Herkunft erscheint nicht möglich. Die Knorpelzellen gehen allmählich in Bindegewebszellen über, und es fällt oft schwer zu sagen, ob eine Zelle noch die Form der Spindelzelle oder schon die der Knorpelzelle besitzt (Abb. 11 und 12). Der Raum zwischen Tibia und Fibula ist mit diesem Knorpel- und Bindegewebe erfüllt,



Abb. 7. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Granulationsgewebe 5 Tage nach dem Bruch, unbestrahlt.

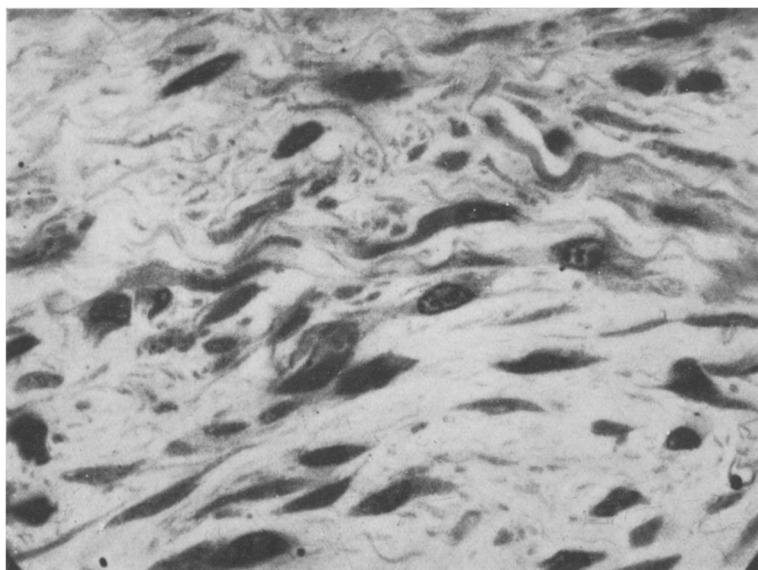


Abb. 8. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Granulationsgewebe 5 Tage nach dem Bruch, bestrahlt (8 H). Beginnende Bildung von Bindegewebsfasern.



Abb. 9. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Beginnende Knorpelzellbildung im Granulationsgewebe nach 5 Tagen, unbestrahlt.

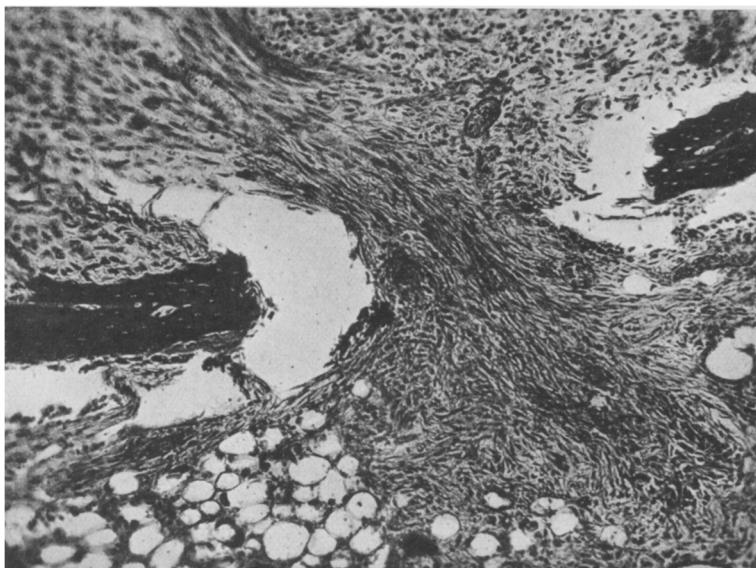


Abb. 10. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Im selben Zeitpunkt überwiegt auf der bestrahlten Seite die Fibrose.



Abb. 11. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Knorpelzellbildung aus Spindelzellen am 5. Tage, unbestrahlt. Es überwiegt der Spindelzellcharakter (Sp).

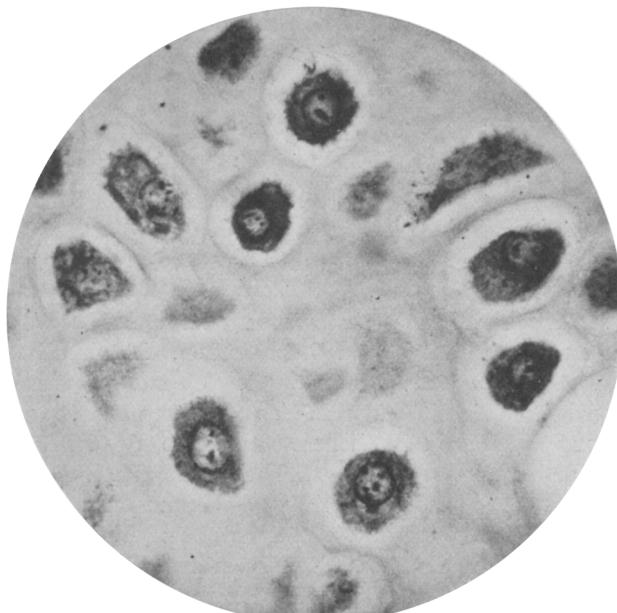


Abb. 12. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Benachbarte Stelle der Abb. 11, unbestrahlt. Die Zellen tragen bereits deutlich den Charakter der Knorpelzellen.

die Gefäße und Nerven, die ursprünglich hier verlaufen, sind durch das neugebildete Gewebe ersetzt. Dieses Gewebe bildet die Grundlage, auf der der knöcherne Callus entsteht. Seine Entwicklung geht in der Weise vor sich, daß es am Ende der ersten Woche zu Gefäßneubildungen kommt. Um diese Gefäße herum nehmen Zellen die Form von Osteoblasten an, und durch ihre Tätigkeit kommt es zur fortschreitenden Bildung von Knochenbalkchen. Die Annahme, daß diese Osteoblasten



Abb. 13. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Verknöcherung des Bindegewebes mit direkter Verkalkung der oxyphilen Grundsubstanz nach 10 Tagen, unbestrahlt.

nur von spezifischen Zellen abstammen oder aus besonderen Zellen mit embryonalen Eigenschaften hervorgehen, ist durch die mikroskopische Betrachtung nicht begründet. Überall, wo neue Gefäße gebildet werden, erfolgt im Anschluß an ihre Durchblutung die Osteoblastenbildung angrenzender Zellen. Für ihre Umwandlung scheint demnach in erster Linie der Umstand maßgebend zu sein, daß sie an den Ufern der Gefäße besonderen Lebensbedingungen unterworfen sind, die sie befähigen, eine besondere Zelltätigkeit zu entfalten. Die Röntgenbestrahlung ändert an diesen Verhältnissen nur insofern, als weniger Gefäße neugebildet werden. Die Verknöcherung selbst geht jedoch um diese an Zahl geringeren Gefäße in der gewöhnlichen Weise vor sich. Es entstehen weniger Knochenbalkchen, deren Breite und zelliger Aufbau

unverändert erscheint. Außer dieser durch Osteoblasten hervorgerufenen Verknöcherung durch Ersatz des Knorpelgewebes kommt es teilweise in jenem Bereich des Callus, wo die Knorpelzellbildung nicht Platz gegriffen hat, zur *direkten Verknöcherung*. Die oxyphile Grundsubstanz verkalkt hierbei und mauert die Bindegewebszellen, die zackige Begrenzungen bekommen, ein. Eine solche Art der Verknöcherung kann unmittelbar neben dem Knorpelgewebe vor sich gehen. Die mikro-

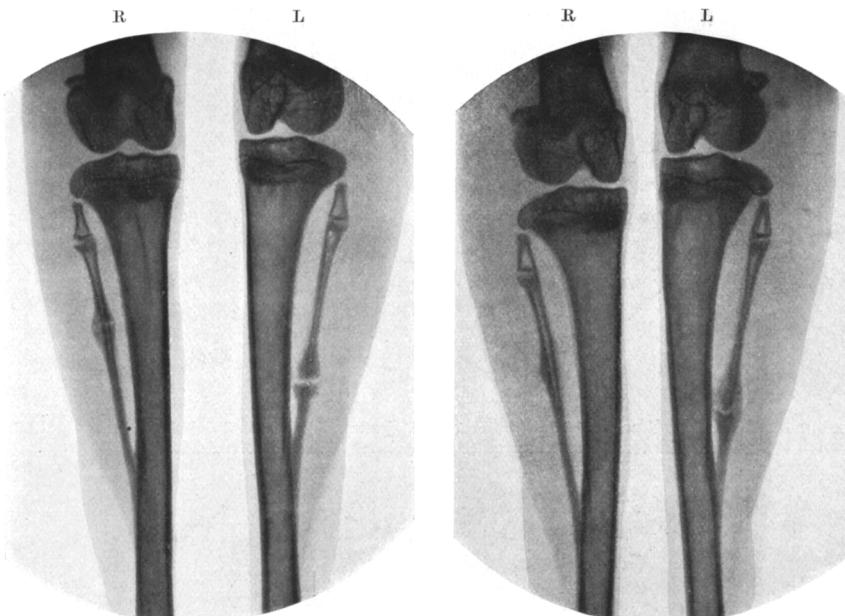


Abb. 14. Zustand des Bruchs nach 14 Tagen, rechts (R) bestrahlt mit 8 H (400 R), links (L) unbestrahlt. Links ist der Callus reichlicher entwickelt.

Abb. 15. Zustand nach 21 Tagen. Auf der bestrahlten Seite (R) ist die Callusentwicklung geringer, die Festigung jedoch weiter fortgeschritten.

skopische Betrachtung lehrt, daß die Aufnahme von Kalksalzen nur in der oxyphilen Grundsubstanz vor sich geht (Abb. 13).

Die nach 14 und 21 Tagen vorgenommene Röntgenaufnahme zeigt, daß der Kalkgehalt auf der bestrahlten Seite vermehrt ist, der geringere Umfang des Callus entspricht der mikroskopischen Beobachtung (Abb. 14 und 15).

Nach 3 Wochen hat die vorläufige Callusbildung ihre größte Ausdehnung erreicht. Der Periostmantel, der die gesamten Knochenbalkchen umgibt, ist auf der bestrahlten Seite 2—3 mal breiter und in seinem Aussehen wesentlich verändert (Abb. 16 und 17). Die gewöhnliche Bündelform der Fibrillen ist einem dichten regellosen Faserwerk aus Bindegewebe gewichen, in dem schmale, dunkle Kerne liegen (Abb. 18 und 19).

Nach 4 Wochen beginnt im Bereich der Knochenachse der Abbau der provisorischen Knochenbalkchen, wodurch es wieder zur Bildung

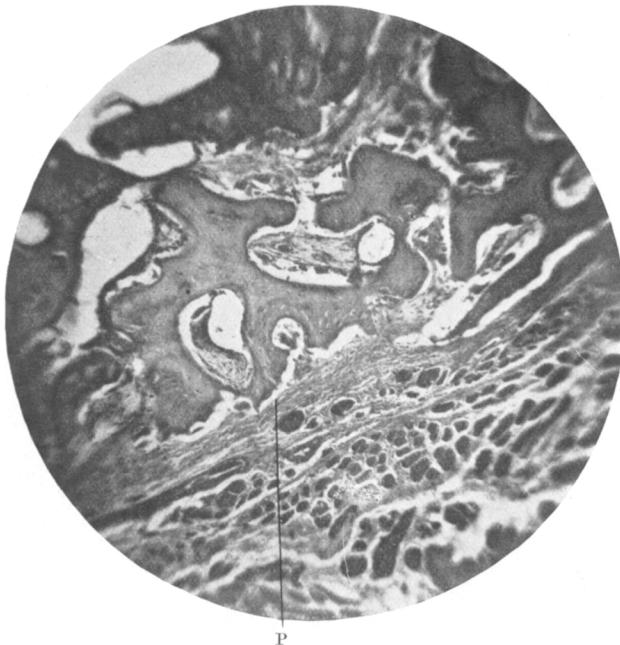


Abb. 16. (Reichert: Apoch. 16 mm.) Knochenregeneration nach 3 Wochen, unbestrahlt. Ein dünner Periostmantel (P) umschließt die Knochenbälkchen.



Abb. 17. (Reichert: Apoch. 16 mm.) Knochenregeneration nach 3 Wochen, bestrahlt mit 8 H (400 R). Der Periostmantel (P) ist 2-3mal so breit wie auf der unbestrahlten Seite.

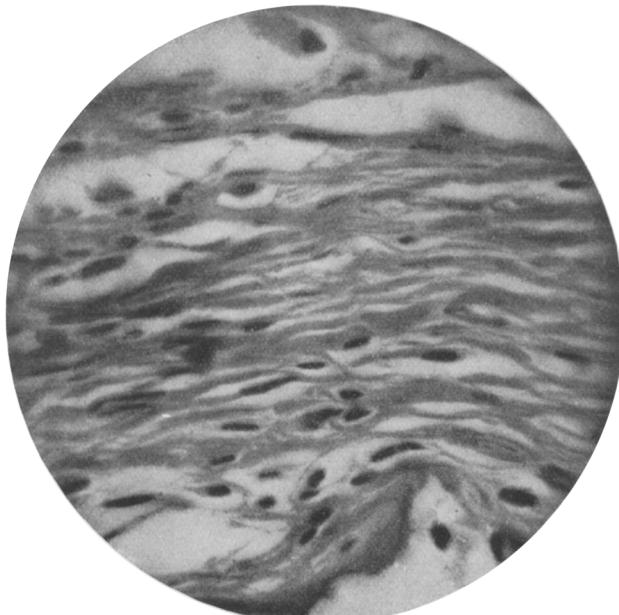


Abb. 18. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Zustand wie bei Abb. 16 bei starker Vergrößerung.
Normales Bild des sich neubildenden Periostes.

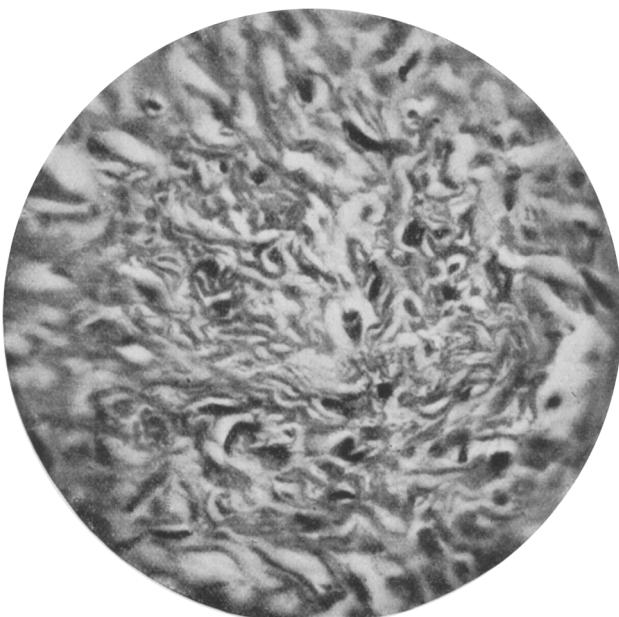


Abb. 19. (Reichert: Öl-Imm. 2 mm.) Zustand wie bei Abb. 17 bei starker Vergrößerung.
Das sich neubildende Periost ist durch die Röntgenbestrahlung mit 8 H (400 R, 75% H E D)
wesentlich verändert.

eines zentralen Markraumes kommt, der für Kleintiere kennzeichnend ist, da bei ihnen die Röhrenknochen keine Teilung in Compacta und Spongiosa aufweisen. Der Knochenabbau erfolgt zum Teil durch Osteoklasten, zum Teil jedoch werden die noch jugendlichen Knochenzellen von ihrer Einmauerung befreit, indem die knöcherne Grundsubstanz ihren Kalkgehalt wieder verliert. Die auf diese Weise freiwerdenden Zellen sowie die Osteoklasten gelangen in den sich neubildenden zentralen Markraum, sie stellen einen wesentlichen Bestandteil des sich regenerierenden Knochenmarkes dar. Nach 5 Wochen ist in diesem zentralen Markraum ein gefäßreiches Parenchym entstanden, das in diesem Zeitpunkten auf der unbestrahlten Seite reichlicher entwickelt ist, als es der Fibula des Kaninchens entspricht. Auf der bestrahlten Seite bietet das Mark das normale Bild, auf der unbestrahlten zeigen Übergangsformen von Spindelzellen und Gefäßwandzellen in Knochenmark-Parenchymzellen die vor sich gehende Umwandlung an.

Nach 7 Wochen hat die Knochennarbe auf der bestrahlten Seite annähernd den Aufbau des normalen Knochens wieder erlangt. Auf der unbestrahlten sind die Markgefäße in Rückbildung begriffen, der Zustand entspricht dem auf der bestrahlten Bruchstelle etwa nach 5 Wochen. Das Periost ist auf der bestrahlten Seite auch weiterhin beträchtlich verdickt und in seiner Form verändert.

Weitere mikroskopische Untersuchungen wurden nicht vorgenommen. Fortgesetzte Beobachtung im Röntgenbild haben jedoch gezeigt, daß die beschriebenen Veränderungen für die Weiterentwicklung des jugendlichen Knochens belanglos sind.

Schlußfolgerungen.

Vorliegende Ergebnisse lassen keinen Zweifel darüber offen, daß die hiermit experimentell bestätigte *schnellere knöcherne Vereinigung von Knochenbruchstücken* nach Röntgenbestrahlung mit mittleren Dosen nicht auf eine Vermehrung der Callusbildung zurückgeführt werden kann. Der Callus erfährt sogar durch die Bestrahlung eine Verminderung seiner Menge, die jedoch einer schnelleren Verkalkung unterliegt. Entsprechend dem Entwicklungsvorgang bei der traumatisch bedingten Knochenneubildung sind verschiedene Umstände, die durch die Röntgenbestrahlung beeinflußt werden, für den abgeänderten Heilungsverlauf verantwortlich zu machen.

Die ersten nachweisbaren Röntgenveränderungen sind bereits bei der jede Knochenheilung einleitenden traumatischen Entzündung nachweisbar, es zeigt sich nämlich, daß die örtliche Reaktion aller unspezifischen und auch jener Zellen gehemmt wird, denen seit Gegenbauer, H. Müller, Waldeyer spezifische Fähigkeiten der Knochenbildung zugeschrieben werden. Auf Grund der mikroskopischen Betrachtung erscheint es nicht möglich, in dem sich bildenden Granulationsgewebe eine Trennung der Zellen nach ihrer Herkunft vorzunehmen. Die zeitlich nach kurzen

Abständen ausgeführten Untersuchungen und neuere Ergebnisse der Bindegewebsforschung (*v. Möllendorff*) lassen es berechtigt erscheinen, diese Vorgänge in dem Sinne aufzufassen, daß es nach Knochenbrüchen unbeeinflußt zu einer traumatischen Entzündung kommt, bei der sich ein großer Teil der örtlichen Bindegewebszellen der Rundzellenform nähert oder seine Bindung mit den übrigen Zellen völlig verliert und zu Rundzellen wird. Diese Zellumwandlung kann durch die Röntgenbestrahlung teilweise verhindert werden, wie es auch aus meinen Untersuchungen über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die traumatische Entzündung nach Verletzungen der Haut hervorgeht. Durch besonders starke, über den therapeutischen Bereich hinausgehende Bestrahlung kommt es sogar *zur völligen Aufhebung der Reaktionsfähigkeit der örtlichen Bindegewebszellen*, wie Versuche bei einer Bestrahlung mit 32 H (1600 R) gezeigt haben. Die Wucherung der Bindegewebszellen ist aber eine notwendige Folge der Knochenverletzung, da im Anschluß an die entzündliche Zellneubildung die Knochenneubildung erfolgt, die sich bei ihrer Entstehung des Granulationsgewebes bedient, das allmählich durch das Knochengewebe ersetzt wird, wobei die Grenzen des neu gebildeten Knochens weitgehend mit jenen des Granulationsgewebes zusammenfallen. Der Umstand, daß die Knochenheilung schneller vor sich geht, wenn die traumatische Entzündung durch die Röntgenbestrahlung verringert wurde, läßt wohl berechtigterweise den Schluß zu, daß diese traumatische Entzündung einen bedeutsamen Anteil an der Knochenneubildung besitzt. Daß den mit den Granulationszellen vermengten, gleichfalls wuchernden Periost- und Endostzellen, die aber als solche nicht mehr kenntlich sind, eine besondere Rolle bei der Verknöcherung zufällt, soll nicht bestritten werden, da sie durch zahlreiche Tierversuche bewiesen ist (*Ollier, Rhode*), doch fällt sie ihnen nicht allein zu. Obwohl unter den keimfreien Bedingungen meiner Versuche das entzündliche Stadium nicht über die ersten Tage hinaus angehalten hat, sondern stets nach 5 Tagen mit dem Auftreten von Knorpelzellen vom Regenerationsstadium gefolgt worden ist, glaube ich doch annehmen zu dürfen, daß ein Fortbestehen der Entzündung für die Regeneration hinderlich ist, da bereits die Verminderung der gewöhnlich auftretenden traumatischen Entzündung zur schnelleren Heilung führt, wie ich auch bei Wunden der Haut zeigen konnte.

Die durch die Bestrahlung hervorgerufene fibröse Umwandlung der Zellen im Stadium der Entzündung führt im Stadium der Regeneration zu einer geringeren Gefäßneubildung. Die Bedeutung der Gefäßhyperämie (*Bier, Lexer*) für die rasche Heilung von Knochenwunden wird demnach einer neuerlichen Prüfung zu unterziehen sein, *da gerade der gefäßarme Callus rasch verkalkt. Es kommt demgemäß der Strahleneinwirkung auch keineswegs eine Förderung der Hyperämie zu, die für das Ergebnis verantwortlich gemacht werden könnte.*

Da die Neubildung der Knochenbälkchen vorwiegend um die Gefäße erfolgt, ist sie entsprechend der Gefäßarmut der bestrahlten Seite auf dieser der Menge nach vermindert, wobei die neugebildete Bälkchenmasse von dem beschriebenen kennzeichnenden Periostmantel umgeben wird. Bei der allgemeinen biologischen Bedeutung, die der Wachstums-hemmung von Neubildungen zukommt, beansprucht dieses Vorkommnis besondere Erwähnung. *Die deutlichen Veränderungen am Bindegewebe und das unveränderte Aussehen der einzelnen Knochenbälkchen spricht jedenfalls dafür, daß dieses eigenartige Bindegewebe für die Hemmung der Knochenneubildung verantwortlich zu machen ist.* Es würde dies für die Ansicht von *Opitz* sprechen, der dem bestrahlten Bindegewebe die Wachstumshemmung von Neubildungen zuschreibt. Für diese Annahme sind auch die Versuche von *Murphy* zu verwerten, der bei Tieren durch Vorbestrahlung örtliche Unempfänglichkeit gegen Impfungen mit Krebs-gewebe erzeugt hat. Hierher gehört auch eine Beobachtung von *Holt-husen*, der einen Fall beschreibt, bei dem es nach einer postoperativen Bestrahlung eines Brustkrebses nach Jahren zu ausgedehnten Haut-metastasen kam, die den bestrahlten Bereich freiließen. Es ist denkbar, daß die Beschaffenheit dieses Bindegewebes ein Wachstum anderer Zellen über den von ihm eingenommenen Raum nicht zuläßt, was beim normalen Bindegewebe nicht zutrifft. *Jedenfalls besitzt dieses Bindegewebe eine so gut gekennzeichnete Form, daß an ihm die stattgehabte Bestrahlung leicht zu erkennen ist.* Ähnliche Bindegewebsveränderungen nach Röntgenbestrahlung wurden bereits mehrfach beschrieben (*F. Freund, Lubarsch und Wäljen, Unna, Zurbelle*).

Im Gegensatz hierzu bietet das Knochengewebe keine histologischen Merkmale der vorangegangenen Bestrahlung. Über das spätere Schicksal dieses veränderten Bindegewebes liegen noch keine Untersuchungen vor, doch wäre es gewiß wichtig zu erfahren, ob es in der gleichen Form bestehen bleibt oder einer völligen Wiederherstellung fähig ist, und ferner, ob es im Falle neuerlicher entzündlicher Reize eine volle wieder-gewonnene Reaktionsfähigkeit zeigt.

Die Regeneration des Knochenmarkes aus den Bindegewebsszellen und den Wandzellen der neugebildeten Gefäße, die durch den Abbau der provisorischen Knochenbälkchen in den gemeinsamen Markraum gelangen, ist ein weiterer Beweis für die *Differenzierungsfähigkeit* der Bindegewebsszellen. *Lubarsch* hat darauf hingewiesen, daß bei Ver-knöcherungen in der Lunge Markzellen mit Kohlenteilchen beladen sein können, was für ihre Entstehung aus Bindegewebsszellen beweisend sei. Bei der Rückbildung des fibrösen Markes im Verlaufe der Knochen-heilung kommt es zur nachweisbaren Umwandlung von Bindegewebs-zellen in Markzellen, wie es an Übergangsformen festgestellt werden kann. Der Einwand, daß Übergangsformen im mikroskopischen Präparat nur Zustandsbilder darstellen, aus denen eine tatsächliche Umwandlung nicht

mit Sicherheit angenommen werden kann, ist gegebenenfalls deshalb nicht stichhaltig, da die *zeitlich fortlaufend angestellten Untersuchungen die Umwandlung der Knochenmarkzellen in Spindelzellen am Beginne der Knochenheilung und ihre Rückumwandlung am Ende der Knochenheilung zeigen*.

Von Bedeutung sind ferner die Vorgänge, die sich im Anschluß an die Bestrahlung mit sehr hohen Dosen des Röntgenlichtes abspielen. Der Umstand, daß alle zur Knochenbildung befähigten Zellen in Spindelzellen übergeführt werden, spricht gleichfalls in hohem Grade für die Herkunft knochenbildender Zellen aus *indifferenten Bindegewebszellen*. Ferner ist bemerkenswert, daß dieser Zustand, der nicht so sehr, wie bei der Bestrahlung mit mittleren Dosen, Grad- als vielmehr Artabweichungen vom gewöhnlichen Verhalten zeigt, nicht von Bestand ist, sondern daß es nach einer Latenzzeit von 3 Wochen zu einer starken Gefäßwucherung und Hyperämie kommt, in deren Gefolge eine ver-spätete verstärkte, jedoch *kalkarme Callusbildung* einsetzt. Die Heilung tritt hierbei verzögert ein. Diese experimentellen Ergebnisse lassen Schlüsse auf Bestrahlungen mit sehr großen Dosen zu therapeutischen Zwecken beim Menschen ziehen, bei denen gleichfalls durch die nach einer Latenzzeit folgende starke Gefäßreaktion der Bestrahlungserfolg, der mit mittleren Dosen erreicht worden wäre, aufgehoben werden könnte, wenn nämlich im Anschluß an die stärkere Durchblutung ein verstärktes Wachstum von Neubildungen vor sich geht, wie es bei der *Knochenneubildung der Fall ist*.

Die Ergebnisse vorliegender Untersuchungen sind demnach geeignet, in einer Reihe von Fragen der Strahlenbiologie und Knochenpathologie Aufschlüsse zu geben, die noch umstritten sind, und derart zu ihrer Lösung beizutragen.

Zusammenfassung.

1. Durch Bestrahlung einer Knochenverletzung mit sehr großen Röntgenlichtmengen wird die Tätigkeit der knochenbildenden Zellen auf die Dauer von 3 Wochen völlig unterdrückt. An Stelle der Knochenneubildung findet sich ein eigenartig geformtes, derbes Bindegewebe, dessen Zellen den Knochenzellen ähneln.

2. Nach Ablauf von 3 Wochen kommt es in diesem gefäßarmen Bindegewebe zur Bildung zahlreicher, stark gefüllter Gefäße, um die nun eine lebhafte Knochenneubildung einsetzt. Die Heilung ist trotzdem später beendet als auf der unbestrahlten Stelle desselben Versuchstieres.

3. Durch Bestrahlung mit mittleren Röntgenlichtmengen wird die Menge des Callus in mäßigem Grade verringert, doch tritt auf der bestrahlten Seite des Versuchstieres eine raschere Heilung ein als auf der unbestrahlten.

4. Der abgekürzte Heilungsverlauf bei mittelstarker Bestrahlung ist an Röntgenbildern daran kenntlich, daß die Verkalkung früher einsetzt und der Abbau des vorläufigen Callus früher beendet ist.

5. Makroskopisch sind die Verhältnisse an den Knochen der getöteten Tiere dadurch gekennzeichnet, daß auf der mittelstark bestrahlten Seite die Knochennarbe gefäßärmer und kalkreicher ist.

6. Die mikroskopische Betrachtung zeigt, daß die anfängliche, im Gefolge der Knochenwundheilung auftretende traumatische Entzündung verringert wird, wobei die Granulationszellen durch die Bestrahlung früher Spindelformen annehmen und die Fibrillenbildung früher einsetzt.

7. Die Gefäßneubildung ist auf der bestrahlten Seite geringer, die Masse der vorläufigen Knochenbälkchen an Ausdehnung vermindert, der Bau der einzelnen Bälkchen jedoch unverändert. Die endgültige Knochennarbe, die nach dem Abbau der überflüssigen Knochenbälkchen entsteht, ist früher vollzogen.

8. Der neugebildete Knochen zeigt auf der bestrahlten Stelle einen breiteren Periostüberzug, als dies auf der unbestrahlten Seite der Fall ist. Die Knochenhaut weist nicht die gewöhnliche Bündelform auf, sondern stellt ein regelloses Faserwerk aus sich durchkreuzenden Bindegewebsfibrillen mit spärlichen Kernen dar. Diese Veränderung ist für die vorausgegangene Röntgenbestrahlung kennzeichnend.

9. Da durch die Röntgenbestrahlung alle an der Verknöcherung beteiligten Zellen je nach der Größe der verabfolgten Dosis in Bindegewebszellen übergeführt werden und diese Bindegewebszellen nach einer Latenzzeit von mehreren Wochen wieder verknöchern können, ist die Schlußfolgerung berechtigt, daß allen Bindegewebszellen knabebildende Fähigkeiten innewohnen.

Literaturverzeichnis.

- Albee u. Morrison:* Studien über Knochenwachstum. Ann. Surg. **71**, 32. — *Albers Schönberg:* Über eine bisher unbekannte Wirkung der Röntgenstrahlen auf den Organismus der Tiere. Münch. med. Wschr. **1903**, 1859. — *Asada, T.:* Über die Histogenese und die Ossifikation des Callus. Arch. klin. Chir. **147**, 199 (1927). — *Aschoff, L.:* Lehrbuch der pathologischen Anatomie 1921. — *Axhausen:* Die histologischen und klinischen Gesetze der freien Osteoplastik auf Grund von Tierversuchen. Arch. klin. Chir. **88** (1909). — *Bajardi:* Über die Bildung und Rückbildung des Callus bei den Brüchen der Röhrenknochen. Untersuchungen zur Naturlehre des Menschen und der Tiere. Bd. 12. 1881. — *Bauer:* Über Osteogenesis imperfecta. Zugleich ein Beitrag zur Frage einer allgemeinen Erkrankung sämtlicher Stützgewebe. Dtsch. Z. Chir. **154**, 166 (1920). — *Bergel:* Callusbildung durch Fibrin. Arch. klin. Chir. **95** (1911). — *Bergmann, S.:* Zu der Frage der endostalen Callusbildung. Arch. klin. Chir. **129**, 490 (1924). — *Bier:* Beobachtungen über Regeneration beim Menschen. Dtsch. med. Wschr. **43** (1917). — Über Knochenregeneration, über Pseudarthrosen und über Knochentransplantate. Arch. klin. Chir. **127** (1923). — *Bonomo:* Zur Histogenese der Knochenregeneration. Virchows Arch. **100** (1885). — *Bruns:* Die Lehre von den Knochenbrüchen. Dtsch. Chir. **27**. Stuttgart 1886. — *Burkhardt:* Knochenregeneration. Bruns' Beitr. **137**, 63 (1926). — *Büsch, E.:* Ein Beitrag zur Frage der Knochenregeneration. Arch. klin. Chir. **146**, 586 (1926). — *Campbell, D.:* Zwei Fälle von paraostaler Knochenbildung. Fortschr. Röntgenstr. **36**, 1261 (1927). — *Cluzet et Dubreuil:* Action des rayons X sur le développement

du cal. J. Physiol. et Path. gén. **1913**, 327. Ref. Z.org. Chir. **2**, 103. — Annales d'Electrobiologie et de Radiologie 1913. — Dietrich, Hans: Die Histogenese des Callus. Arch. klin. Chir. **141**, 27 (1926). — Die Regeneration des Knochens in ihrer Bedeutung für die Chirurgie. Münch. med. Wschr. **1928**, 1489. — Eden: Versuche über Vorgänge bei der Frakturheilung. Arch. klin. Chir. **126** (1923). — Eiselsberg, A.: Verbesserung der Frakturbehandlung durch die Verwendung von Röntgenstrahlen. Wien. med. Wschr. **1925**, 53. — Ely, W.: The internal callus. An experimental Study. Arch. Surg. **15**, 936 (1927). — Foot, N. C.: Über das Wachstum von Knochenmark in vitro usw. Beitr. path. Anat. **53** (1912). — Försterling: Über Wachstumsstörungen nach kurzdauernder Röntgenbestrahlung. Zbl. Chir. **33**, 521 (1906). — Fraenkel, M.: Die günstige Einwirkung der Röntgenstrahlenreizdosen bei der Heilung von Knochenbrüchen. Zbl. Chir. **1914**, 1105. — Zur Heilung von schweren Knochenbrüchen mittels Röntgenreizdosen. Med. Klin. **1915**, 211. — Fujinami, K.: Über die Gewebsveränderungen bei der Heilung von Knochenfrakturen. Beitr. path. Anat. **29**, 432 (1901). — Fukase, S.: Über die Beeinflussung der traumatischen Entzündung durch Röntgenstrahlen. Virchows Arch. **273**, 794 (1929). — Gatewood u. Müller: Experimental observation on the growth of long bones. Arch. Surg. **15**, 215 (1927). — Gegenbauer: Über die Bildung des Knochengewebes. Jena. Z. Naturwiss. **1** (1864). — Glässner u. Haß: Experimentelle Beeinflussung der Callusbildung bei Knochenfrakturen. Klin. Wschr. **1928**, Nr 35. — Goetze: Aufbau und Abbau bei der Frakturbildung als Wegweiser für die Therapieform. 51. Tagg dtsch. Ges. Chir. Berlin, 20.—23. April 1927. — Gruber: Über metaplastische Knochenbildung in der Muskulatur und ihrer Nachbarschaft. Bruns' Beitr. **106**, 384 (1917). — Gümbel: Beitrag zur Histologie des Callus. Virchows Arch. **183**, 470 (1906). — v. Hansemann: Über die Callusbildung nach Knochenverletzungen. Berl. klin. Wschr. **1915**, 151. — Heine, Bernhard: Die Versuche über Knochenregeneration. 1926. — Herzog: Über die Bedeutung der Gefäßwandzellen in der Pathologie. Klin. Wschr. **1923**, 684. — Holzknecht, G.: Die Bedeutung der funktionellen Anpassung für die Pathogenese abnormer Bindegewebsverknöcherung. Wien. klin. Rundsch. **1902**, Nr 40. — Jottkowitz, R.: Lehrbuch der Unfallheilkunde 1928. — Jüngling: Röntgenbehandlung chirurgischer Krankheiten. 1924. — Kapsammer: Zur Frage der knorpeligen Callusbildung. Virchows Arch. **152** (1898). — Katzenstein, M.: Die wechselseitigen Störungen der Knochenhaut und des Knochenmarks im Knochenaufbau. Arch. klin. Chir. **145**, 461 (1927). — Kleinschmidt: Experimente über periostlose Knochenregeneration. Zbl. Chir. **1924**, Nr 24. — Koch, H.: Experimentelle Studien über Knochenregeneration und Knochenkalkbildung. Beitr. klin. Chir. **132**, 364 (1925). — Über die Bedeutung der Knochenhaut bei der Knochenbruchreinrichtung. Arch. klin. Chir. **146**, 425 (1927). — Kohler: Über die Behandlung von Knochenbrüchen mit Röntgenstrahlen. Dtsch. Z. Chir. **147**, 105 (1918). — Die Behandlung pathologischer Frakturen mit Röntgenstrahlen. Dtsch. med. Wschr. **47**, 741 (1921). — König, Fr.: Über Abbau am gebrochenen Knochen, sein Wesen und seine Bedeutung. Arch. klin. Chir. **146**, 624 (1927). — Kraft: Zur Histogenese des periostalen Callus. Beitr. path. Anat. **1886** I. — Kurtzahn: Die Chirurgie von Kirschner und Nordmann. Bd. 1, S. 279. 1926. — Lange, Fr.: Die Behandlung der Knochenbrüche. 1926. — Lehmann: Knochenregeneration nach Röntgenbestrahlung. 47. Verh. dtsh. Ges. Chir. **1923**. — Lexer, Kuliga u. Türk: Untersuchungen über Knochenarterien. Berlin 1904. — Lexer, E.: Wiederherstellungs chirurgie. Leipzig 1920. — Arthrodesenoperation und Regeneration. Dtsch. Z. Chir. **162**, 1 (1921). — Lehrbuch der allgemeinen Chirurgie. 1924. — Die Bedeutung des Bindegewebes für die Knochenregeneration. Zbl. Chir. **1928**, 2697. — Lubarsch, O.: Verh. dtsh. path. Ges. Tagg **1900**. — Diskussion zu Martin. Berl. klin. Wschr. **1921**, 260. — Lubarsch, O. u. T. Wätjen: Allgemeine und spezielle pathologische Histologie der Strahlenwirkung. Handbuch der gesamten Strahlenheilkunde, Biologie, Pathologie und Therapie I. S. 304. 1928. — Maas: Über das Wachs-

tum und die Regeneration der Röhrenknochen usw. Arch. klin. Chir. **20** (1877). — *Maas, H.*: Knochenwachstum und Knochenaufbau. 1926. — *Marschand, F.*: Zur Kenntnis der Knochentransplantation. Verh. dtsch. path. Ges. 1899. — Der Prozeß der Wundheilung. Dtsch. Chir. **16**. Stuttgart 1901. — *Martin*: Über experimentelle Pseudarthrosenbildung und die Bedeutung von Periost und Mark. Arch. klin. Chir. **114** (1920). — *Matti, H.*: Die Knochenbrüche und ihre Behandlung. Berlin 1918. — *Müller, W.*: Der Einfluß der Röntgenstrahlen auf den Knochen. Münch. med. Wschr. **70**, 980 (1923). — Die normale und pathologische Physiologie des Knochens. Leipzig 1924. — *Nikolsky*: Histologische Untersuchungen über die Heilung der Knochenbrüche in verschiedenen Altersperioden. Virchows Arch. **54** (1872). — *Ollier*: Traité exp. et clin. de la régénération de l'os. Paris 1867. — *Orsós, F.*: Das Bindegewebsgerüst des Knochenmarks im normalen und pathologischen Zustand. Beitr. path. Anat. **76**, 36 (1927). — *Partsch u. Billich*: Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der vitalfarbbaren Zellen bei der Callusbildung. Arch. klin. Chir. **147**, 220 (1927). — *Perthes*: Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf epitheliale Gewebe, insbesondere auf das Carcinom. Arch. klin. Chir. **71**, 955 (1903). — *Pfab, Bruno*: Über Frakturheilung. Arch. orthop. Chir. **25** (1927). — *Pohle, A.*: The effect of X Rays on callus formation in united fractures. Radiology **1925**, 67. — *Policard*: Les phénomènes biologiques généraux de l'évolution des transplants osseux. Lyon chirurg. 1922. — *Rahm*: Röntgentherapie der Chirurgie **1927**, 484. — *Regaud, Lacassagne et Ferroux*: Radiophysiologie et radiothérapie. Recueil de travaux biologiques, techniques et thérapeutiques. Arch. de l'inst. du radium de l'univ. de Paris et de la fond. Curie 1927. — *Rehbein*: Über Muskelverknöcherung nach Rückenmarksverletzung. Zbl. Chir. **1924**, Nr 23. — *Rhode*: Über den Ablauf der Regenerationsvorgänge am Röhrenknochen usw. Arch. klin. Chir. **123** (1923). — Beiträge zur Frage der Metaplasie des Bindegewebes im Knochen. Zbl. Chir. **1924**, Nr 48. — *Rieder u. Rosenthal*: Lehrbuch der Röntgenkunde 3 (1922). — *Salvetti*: Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Bildung der Knochennarbe. Dtsch. Z. Chir. **128**, 130 (1914). — *Schaffer, J.*: Lehrbuch der Histologie und Histogenese. 1922. — *Schmidt*: Röntgentherapie, Oberflächen- und Tiefenbehandlung. Bearb. von *A. Heßmann* 1923. — *Schneider, E.*: Zur Biologie der Frakturheilung. Arch. klin. Chir. **144**, 689 (1927). — *Schubert, A.*: Experimenteller Beitrag zur Frage der Frakturheilung. Arch. klin. Chir. **138**, 587 (1925). — *Schulze, W.*: Die Bedeutung des Bindegewebes bei der Verknöcherung. Zbl. Chir. **1928**, 2697. — *Segale*: Über die Wirkung der Röntgenstrahlen und des Radiums auf die Epiphysenknorpel. Z. org. Chir. **9**, 96 (1920). — *Sgobbo, P.*: Nelle formatione del callo osseo. Riforma med. **34**, 15 (1918). — *Szymanowicz, L.*: Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie. Leipzig 1921. — *Tammann*: Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Frakturheilung. Bruns' Beitr. **128**, 536 (1923). — *Tsunoda*: Experimentelle Studien zur Frage der Knochenbildung aus verlagerten Periostosteoblasten. Virchows Arch. **200** (1910). — *Turco, A.*: L'azione dei raggi roentgen sul consolidamento delle fracture. (Die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Konsolidierung von Frakturen.) Studio sperimentale e clinico diari rat. **6**, 65 (1927). — *Virchow*: Über Bildung und Umbildung von Knochengewebe. Berl. klin. Wschr. **1875**, 2. — *Waldeyer*: Über den Ossifikationsprozeß. Arch. mikrosk. Anat. I **1865**, 354. — *Wehner*: Experimentelle Studie über die Callusentwicklung unter dem Einfluß des funktionellen Reizes ohne und mit Schädigung von Periost und Knochenmark. Bruns' Beitr. **123**, 541 (1921). — *Weidenreich, F.*: Knochenstudien. I. Z. Anat. **69** (1923). — *Wetterer, G.*: Handbuch der Röntgen- und Radiumtherapie. 2, 641 (1928). — *Winkelbauer, A.*: Zur experimentellen Gelenkplastik. Arch. klin. Chir. **138**, 240 (1925). — *Wjereszinski, M.*: Vergleichende Untersuchungen über Explantation und Transplantation von Knochen, Periost und Endost. Virchows Arch. **251** (1924). — *Wulstein u. Küttner*: Lehrbuch der Chirurgie 1923.