

Aus dem Pathologischen Institut der Städtischen Krankenanstalten Mannheim  
(Direktor: Prof. Dr. G. SCHALLOCK).

## Siliciumdioxyd und die reaktive Entstehung von Bindegewebe\*.

Von

HEINRICH SCHMIDT-MATTHIESEN.

Mit 22 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. März 1955.)

Die reaktive Entstehung von Bindegewebe ist als ein biologischer Eigenvorgang aufzufassen, der dann einsetzt und selbständig abläuft, wenn bestimmte physiko-chemische Voraussetzungen (einschließlich einer bestimmten lokalen Stoffwechselbilanz) gegeben sind. Diese Voraussetzungen können durch die Einwirkung zahlreicher Noxen erfüllt werden, offenbar in sehr verschiedener Weise, ohne daß sich diese primären Verschiedenheiten am bindegewebigen Reaktionsprodukt abzeichnen.

Die Deutung derartiger Vorgänge allein aus dem histologisch-histochemischen Bild heraus muß deshalb unbefriedigend bleiben. Zudem kommt es *in vivo* stets zu Überlagerungen verschiedener Teilvorgänge, die eine einwandfreie kausale Betrachtung unmöglich machen. Die Teilvorgänge sind *in vivo* nicht als solche faßbar, eher sind sie einer *in vitro*-Untersuchung zugänglich.

Darum erscheint es aufschlußreich, eine Substanz, die reaktive Bindegewebsentstehung auslöst, sowohl *in vivo* einzusetzen als auch *in vitro* ihre Reaktionsfähigkeit mit den einzelnen Gewebskomponenten zu untersuchen.

Dies ist im vorliegenden Fall mit *kolloidalem Siliciumdioxyd* geschehen. Es wurde einerseits in mehreren *in vitro*-Versuchsreihen bezüglich seiner Wirkung auf Eiweißkörper und Grundsubstanz, Fermente und Gewebshomogenate geprüft, andererseits *in vivo* appliziert und die Gewebsreaktion histologisch und histochemisch verfolgt. Die Zusammenfassung der Ergebnisse vermittelt Vorstellungen über den Wirkungsmechanismus des benutzten Siliciumdioxys sowie über die Bedingungen, unter denen gewisse morphologische Erscheinungen zustande kommen können.

---

\* Ausgeführt mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. — Für zahlreiche wertvolle Anregungen, Hinweise und Unterstützungen habe ich aufrichtigst zu danken den Herren Prof. OETTEL, Prof. SCHALLOCK, Prof. H. J. STAUDINGER, Prof. H. ZAHN, Dr. FIKENTSCHER, Dr. R. JÄGER, Dr. KERSTEN und Dr. WEGERLE.

### 1. Teil: In vitro-Untersuchungen.

*Material.* Bei allen Untersuchungen fand das Kieselsol BASF III/374 Verwendung. Dieses enthält amorphes Siliciumdioxid in kolloidaler, polydisperser Verteilung, bei Teilchengrößen von 100–300 Å. Das Industrieprodukt weist eine geringe Beimengung von Ammoniak, Erdalkalimetallen und Eisen auf. Deren Konzentrationen betragen in der 1%igen Siliciumdioxidlösung für Ammoniak 0,002%, für Calcium und Magnesium 0,000033%, für Eisen 0,000067%. Die Lösung wurde sowohl in diesem Zustand als auch nach vorangehender Dialyse verwendet. Es ist damit zu rechnen, daß durch Adsorptionen ein geringer Bruchteil der Verunreinigungen trotz der Dialyse zurückbleibt. Über die Bedeutung derartiger Ionenbeimengungen s. S. 424.

#### *Siliciumdioxid und Eiweißkörper.*

Monomolekular gelöstes Siliciumdioxid besitzt keine Affinität zu Eiweiß (MYLIUS und GROSCHUFF). In dieser Form vermag es jedoch nur vorübergehend zu existieren — es polymerisiert schon spontan zu größeren Einheiten. Von der Stufe der Hexa-Kieselsäure an reagieren diese Polymerisate (eigentlich Polykondensate) unter Trübung mit Eialbumin (WILLSTÄTTER, KRAUT, LOBINGER). Auch im Schrifttum der Silikose wird häufig die Annahme geäußert, daß Siliciumdioxid mit Eiweiß Fällungen zu bilden vermag (BEGER, JÄGER, KOPPENHÖFER, SIEGMUND, GIESE). Diese Auffassung galt es zu überprüfen und den Reaktionsvorgang genauer zu erfassen.

Ein Zusatz von *Serum* zu kolloidaler Siliciumdioxidlösung führt (im neutralen und sauren Bereich) nach gleichmäßiger Durchmischung zu deutlicher Reaktion, die sich in homogen erscheinender Trübung und teils erheblicher Viskositätserhöhung des Reaktionsproduktes äußert.

Diese Viskositätssteigerung<sup>1</sup> gestattet es, das Ausmaß der Reaktion zwischen Siliciumdioxid und Eiweiß innerhalb gewisser Grenzen quantitativ zu erfassen. Die Reaktionsvorgänge, die dieser Erscheinung zugrunde liegen, werden unten beschrieben (S. 428), dort erfolgt auch ihre chemische und biologische Bewertung.

Die Abhängigkeit der Reaktion von Konzentration und  $p_H$  der Siliciumlösungen zeigt Abb. 1. Die dargestellten Viskositätswerte gehen zu Lasten der Silicium-Eiweißreaktion, da serumfreie Siliciumlösungen auch bei  $p_H$ -Variation keine derartigen Effekte erkennen lassen (lediglich völlig elektrolytfreie Siliciumdioxidlösungen reagieren auf Ansäuerung mit Viskositätserhöhung).

Auch bei Einleitung von  $CO_2$  in neutrale, serumhaltige Siliciumlösungen kommt es zu reaktiver Viskositätssteigerung, die das zehnfache des Ausgangswertes zu erreichen vermag (Ausgangsviskosität der Silicium-Eiweißlösung bei  $p_H$  7,3:1,66, Endviskosität nach  $CO_2$ -Durchleitung 16,3).

<sup>1</sup> Die Messung der Viskosität erfolgte in einem Capillarviscosimeter nach den Angaben von TSUDA und KÜNTZEL. Näheres über Bedeutung, Technik und Auswertung viscosimetrischer Untersuchungen s. PHILIPPOFF, K. H. MEYER und H. STAUDINGER.

Die Viscositätsmaxima liegen im  $p_H$ -Bereich von etwa 4—5,5. Empfindliche Messungen in dem physiologisch interessanten Bereich von  $p_H$  6—8 zeigen jedoch, daß bereits am Neutralpunkt die Viscosität der Siliciumlösung nach Serumzusatz merklich ansteigt (Abb. 2).

Bei Verwendung von  $\gamma$ -Globulin an Stelle von Serum liegt das Viscositätsmaximum im  $p_H$ -Bereich von  $p_H$  6—6,4. Da der isoelektrische Punkt des verwendeten Rinder- $\gamma$ -Globulins bei 6,2 liegt (Werksangabe Behringwerke), ist es naheliegend, eine Beziehung zwischen Siliciumdioxidwirksamkeit und isoelektrischem Punkt der betroffenen Eiweißkörper anzunehmen.

Zur Prüfung dieses Zusammenhanges wurden Serumproben auf die isoelektrischen Punkte der einzelnen Serumfraktionen eingestellt (s. WUNDERLY und WUHRMANN) und ihnen Siliciumdioxid gleicher  $p_H$ -Einstellung zugesetzt. Das gelartige Reaktionsprodukt wurde scharf zentrifugiert und der Überstand elektrophoretisch untersucht (nach Dialyse gegen Michaelispuffer von  $p_H$  8,6). Die Abb. 3 zeigt, daß das  $\gamma$ -Globulin im isoelektrischen Punkt (6,4—6,5) quantitativ mit Silicium in Reaktion getreten und ausgefällt ist. Im Gegensatz dazu erweist sich das Albumin stabil gegen Siliciumeinwirkung im isoelektrischen Punkt. Die  $\alpha$ -Globuline werden offenbar unterhalb ihres isoelektrischen Punktes, also als Kation gefällt, doch läßt sich dieses Ergebnis nicht derartig einheitlich reproduzieren wie das der  $\gamma$ -Globulinreaktion.

Trägt man die unzentrifugierten, gelartigen Silicium-Eiweißreaktionsprodukte auf den Elektrophoresestreifen auf, so verbleibt das  $\gamma$ -Globulin nebst Silicium am Startplatz, während die übrigen Fraktionen (bei  $p_H$  8,6) ordnungsgemäß wandern. Das  $\gamma$ -Globulin reagiert auf

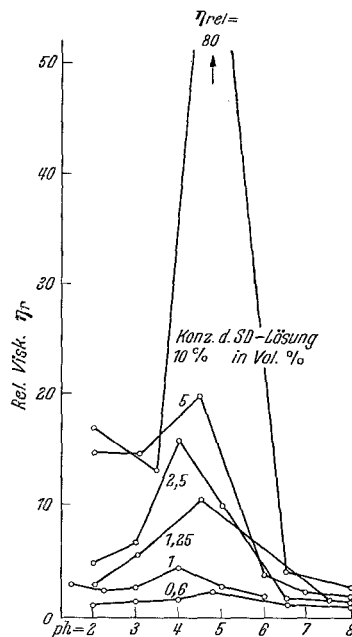


Abb. 1. Relative Viscosität von SD-Lösungen nach Serumzusatz 1:30, in Abhängigkeit von Konzentration und  $p_H$ .

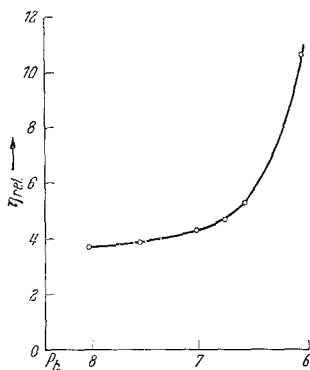


Abb. 2. Relative Viscosität einer 2,5%igen SD-Lösung nach Serumzusatz (1:15) im  $p_H$ -Bereich 6—8.

Grund seiner Eigenarten (S. 447) offenbar anders und bevorzugt mit Siliciumdioxid. Da das Reaktionsoptimum ( $p_H$  6,5) auch in vivo gegeben ist, muß der Reaktion biologische Bedeutung beigegeben werden.

Das Ausmaß der beschriebenen Reaktionen ist außer von Siliciumkonzentration und  $p_H$  noch vom Mengenverhältnis Silicium/Eiweiß abhängig. Abb. 4 zeigt das Ergebnis einer wechselseitigen Variation der Mengenverhältnisse (deren Zahlenwerte unten in der Abbildung dargestellt sind). Das Reaktionsmaximum liegt auf der Seite überwiegender

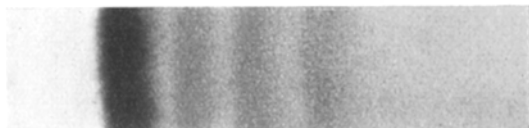
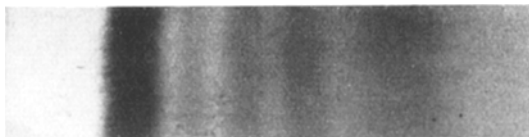


Abb. 3. Elektrophorese bei  $p_H$  8,6. Oben: Normalserum.  
Mitte: Serum, dem bei  $p_H$  6,5 SD zugesetzt wurde.  
Unten: desgleichen bei  $p_H$  4,5. Siehe Text.

Siliciumkonzentration. Das heißt, daß schon geringe Eiweißmengen die Reaktion maximal gestalten können.

Wenn bei konstanter Siliciummenge und konstantem Gesamtvolumen der Mischung lediglich die Einsatzmenge der Eiweißkörper stetig erhöht wird, so steigt zunächst das Ausmaß der Reaktion bis zu einem Konzentrationsverhältnis von 1:4 an. Weitere Eiweißzusätze werden nicht mehr mit Viscositäts-

erhöhung beantwortet. Über ein bestimmtes Maß hinaus vermag Silicium offenbar keinen Einfluß auf Eiweiß auszuüben, durch die ersten Reaktionen wird es inaktiviert (Abb. 5).

Die Intensität von Fällungsreaktionen hängt u. a. von der Brownschen Molekularbewegung der Reaktionspartner ab. Diese steht in enger Beziehung zur Teilchengröße und Teilchenform. Deshalb wurde untersucht, ob für die oben erwähnten Reaktionen ebenfalls die Teilchengröße der Siliciumdioxidkolloide eine Rolle spielt.

Mit der Ultrazentrifuge wurden bei 15000 U/min und 22000 G von dem polydispersen Siliciumsol Kolloidfractionen verschiedener Teilchengröße gewonnen und auf ihre Wirksamkeit Eiweißkörpern gegenüber geprüft.

Unter den bisher eingehaltenen Reaktionsbedingungen sind die grobdispersen Fractionen fast wirkungslos. — Damit erklärt sich auch der Wirkungsverlust alter Lösungen und der Einfluß längerer Erwärmung (bei der es ebenfalls zu einer Dispersionsverminderung kommt).

Da jede Vereinigung von Kolloiden zu größeren Teilchenaggregaten mit Ladungsverlust verbunden ist, darf man vielleicht auch den letzteren für die verminderte Wirksamkeit grober Fraktionen mitverantwortlich machen.

*Beeinflussung und Hemmung der Reaktion zwischen Silicium und Eiweiß.*

Wird zur Herstellung der Siliciumdioxidlösungen als Dispersionsmittel *Periston*<sup>1</sup> an Stelle von Wasser verwendet, so entsteht zwar eine geringgradig erhöht viscöse Lösung (relative Viscosität des Peristons = 2), diese erweist sich aber gegen Säuerung und Serumzusatz stabil, Trübung und Viscositätsanstieg bleiben aus. *Kollidon*, das salzfreie Polyvinylpyrrolidon, hat den gleichen Effekt.

Die Wirkung des Polyvinylpyrrolidons ist als Schutzkolloidwirkung aufzufassen, die einer Fällung beider Partner entgegenwirkt und ihre Dispergierung fördert. Der Effekt tritt nur schwach auf, wenn das Polyvinylpyrrolidon erst nach Mischung von Siliciumdioxid und Serum zugesetzt wird; das Reaktionsprodukt ist offenbar nur geringgradig peptisierbar. In welcher Weise die Wirkung des Polyvinylpyrrolidons im vorliegenden Fall zustande kommt, ist unklar. Vielleicht nimmt es Einfluß auf die Solvatation der Kolloide. Elektrophoretisch wandert es ähnlich wie das  $\gamma$ -Globulin. Es bindet zahlreiche globulinaffine Stoffe, damit vielleicht auch das Siliciumdioxid, es der Reaktion mit Eiweißkörpern entziehend. Embastische Effekte (R. SCHUBERT) und reduzierende Eigenschaften dürften vor allem *in vivo* zur Geltung kommen (S. 454).

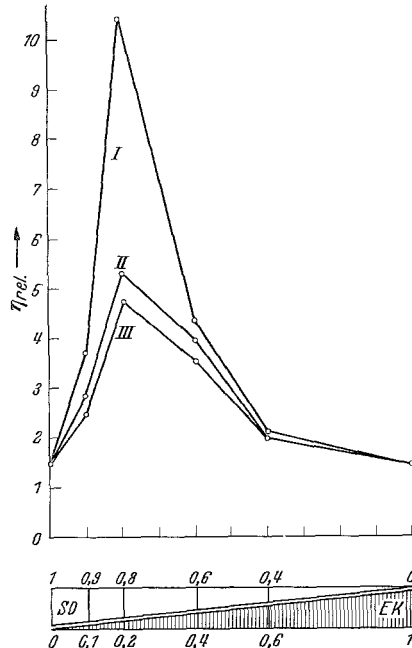


Abb. 4. Bedeutung des Mengenverhältnisses Silicium/Serum (Tabelle) und der Salzbeimengung für die Viscosität des Reaktionsproduktes. Stammlösungen 3%. pH 6,5. Kurve I salzfrei, Kurve II und III NaCl-haltige Lösungen (0,1 bzw. 0,5 m).

Dispersionsgrad, Hydratation, Ladung und Fällungsbereitschaft von Kolloiden hängen weitgehend vom Ionenmilieu ab. Alkaliionen wirken im allgemeinen dispergierend und stabilisierend. Der Einfluß des *Natriums* auf die Reaktion zwischen Siliciumdioxid und Serum zeigt Abb. 4: Kurve I entspricht dem Viscositätsanstieg von natriumfreien Siliciumlösungen nach Serumzusatz, Kurve II und III zeigen denselben Vorgang bei Anwesenheit von NaCl (0,1 bzw. 0,5 molar). Das Ausmaß der Reaktion ist deutlich vermindert.

<sup>1</sup> Periston ist die 4,5%ige Lösung von Polyvinylpyrrolidon (BASF) in Wasser unter Zusatz von NaCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, NaHCO<sub>3</sub> (REPPE).

Umgekehrt, dispersionssenkend und fällungsfördernd, wirken die *mehrwertigen Metallionen*, schon in minimaler Konzentration. Es ist wahrscheinlich, daß das Ausmaß der Silicium-Eiweißreaktion von dem Mischungsverhältnis der anwesenden ein- und mehrwertigen Metallionen mitbestimmt wird.

Die Bedeutung der mehrwertigen Kationen für die vorliegenden Ergebnisse ließ sich nicht befriedigend klären. Man muß annehmen, daß nur ein Teil der Ionen in der Siliciumlösung frei vorhanden und damit dialysabel ist. Der Hauptanteil dürfte an das Silicium adsorbiert sein. Siliciumdioxidlösung, die in üblicher Weise gegen Aqua dialysiert wird, zeigt einen geringgradigen Wirkungsverlust gegenüber

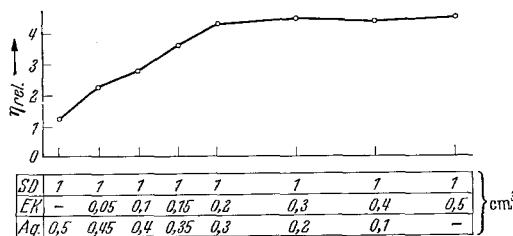


Abb. 5. Ausbleiben weiterer Reaktion nach Erreichen bestimmter Eiweißkonzentration. Zusammensetzung der Lösung s. Tabelle, Stammlösungen 1 %ig. pH 6,5.

Eiweißkörpern, doch ist dieser nicht eindeutig zu beurteilen (Verlust der Kationenbeimengung? Dispersionsverminderung der Siliciumkolloide? Verlust feindisperser Siliciumdioxydanteile?). Verlängert man die Dialysedauer, so erstarrt das Siliciumsol schließlich zu einem zähen Gel. Man muß sich also mit einer unvollständigen Dialyse begnügen. —

Eine abnorm lange Dialyse gegen alkalihaltige Lösungen (die ohne Geleifizierung des Siliciums möglich ist) führt zu weitgehendem Verlust der Siliciumwirksamkeit gegenüber Eiweiß.

### *Siliciumdioxid und Fermente.*

Das Entstehen von Assoziaten aus Siliciumdioxid und Eiweißkörpern verändert die spezifischen Eigenschaften der letzteren. Die Folgen einer solchen Reaktion erscheinen vor allem bei Fermenten bedeutsam. Der Nachweis kann hier von seiten der Funktion her erfolgen, lediglich eine Prüfung von Proteasen erscheint unzumutbar, da hier nicht entscheidbar ist, ob eine Hemmung am Ferment oder am Substrat verankert ist.

*Pankreas-Diastase* und auch *Ptyalin* zeigen eine Funktionshemmung nach Siliciumzusatz. Schon 0,12%ige Siliciumdioxidlösungen hemmen die Diastasefunktion eindeutig. Voraussetzung ist allerdings die Verwendung sehr schwachkonzentrierter Fermentlösungen, sonst läßt sich ein Hemmungseffekt des Siliciums nicht nachweisen. Die Wirksamkeit des *Kinetins* (Hyaluronidase Schering) wird durch Siliciumdioxidzusätze ebenfalls vermindert, was sich leicht viscosimetrisch nachweisen läßt. Hier sind vielleicht neben dem Silicium noch Eisenbeimengungen wirksam, die nach GIBLAN einen Hemmungseffekt auf das Kinetin ausüben.

### *Der Einfluß des Siliciumdioxids auf die Gewebsatmung.*

Die in vitro-Reaktionen des Siliciumdioxids mit Serumeiweißkörpern lassen auch eine intrazelluläre Reaktion mit Strukturen und Fermenten erwarten und damit eine Beeinflussung des Zellstoffwechsels. Letzterer läßt sich u. a. durch die Größe des Sauerstoffverbrauchs beurteilen. Es

wurde deshalb mit Hilfe der Warburg-Apparatur untersucht, ob die Atmung von Gewebshomogenaten und von isolierten Mitochondrien durch Siliciumzusätze zu beeinflussen ist.

Warburg-Gerät Typ Braun-Melsungen. Arbeitstemperatur  $37^{\circ}\text{C}$ . Schüttelfrequenz 75/min. Die Homogenate wurden aus Frischleber hergestellt und in verdünnter Krebs-Ringer-Lösung ( $\text{pH}$  6,6) suspendiert. Im Einsatz 100–150 mg Gewebe (Trockengewicht) und 10–30 mg Siliciumdioxid (nach vorheriger Dialyse gegen den verwendeten Puffer).  $\text{pH}$ -Kontrollen der siliciumhaltigen und siliciumfreien Kontroll-Homogenate am Ionometer. Atmung in atmosphärischer Luft.

Gewinnung der Mitochondrien mit Hilfe der Ultrazentrifuge. Im Einsatz 40–60 mg (Trockengewicht) bei Siliciumzusätzen von 0,5–0,8%. Als Stoffwechselsubstrat wurde Fumarsäure zugefügt, je Einsatz 2–3 mg.

Das Ergebnis der Versuche mit *Leberhomogenaten* zeigt Abb. 6. Ihr liegen die Mittelwerte aus mehreren Versuchen zugrunde. Der Zusatz von Siliciumdioxid führt zu einer anfänglichen Atmungsdepression von 15–25% (gegenüber den siliciumfreien Kontrollen). Nach etwa 50 bis 80 min kommt es zu einer Angleichung der Atmung von siliciumhaltigem und siliciumfreiem Homogenat, danach übersteigt der  $\text{O}_2$ -Verbrauch der siliciumhaltigen Charge sogar den der Kontrolle. Wenn das Silicium bereits einige Stunden vor dem Versuch dem Gewebsbrei zugesetzt wird und auf ihn einwirken kann (bei  $2^{\circ}\text{C}$ ), dann zeigt sich schon zu Beginn des späteren Atmungsversuches eine gesteigerte Atmung dieser Homogenate.

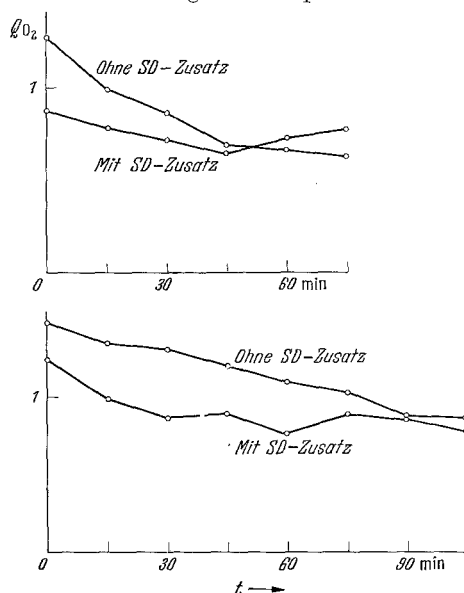


Abb. 6. Atmung von Leberhomogenaten. Abszisse: Zeit, Ordinate: Spezifischer Sauerstoffverbrauch. Oben: Homogenat ohne Glucose. Unten: Homogenat mit Glucose.

Die anfängliche Depression läßt 2 Deutungen zu: Entweder liegt tatsächlich ein Eingriff des Siliciums in den Zellstoffwechsel vor (im Sinne verminderten Sauerstoffverbrauchs, — Glykolyse? Verwertungsstörung?) oder die Wirkung kommt durch die Viscositätserhöhung des Homogenates zustande (Durchmischungs- und Diffusionsstörung). Nach den gemachten Erfahrungen ist der zweite Faktor unter den vorliegenden Bedingungen zu vernachlässigen.

Die spätere Stimulierung des Sauerstoffverbrauchs kann 1. Ausdruck einer durch Silicium beschleunigt einsetzenden Autolyse sein, 2. durch echte Stimulierung physiologischer Stoffwechselvorgänge entstanden sein oder 3. dadurch zustande kommen, daß die Substratverarmung sich in den siliciumhaltigen Homogenaten

auf Grund der anfänglichen Stoffwechseldepression noch nicht auswirkt — im Gegensatz zu den Kontrollhomogenaten, in denen der Stoffwechsel ungehindert ablaufen konnte. Für die letztere Deutung spricht die Tatsache, daß durch Glucosezusatz zu den Homogenaten der Kurvenumschlag hinausgezögert werden kann (Abb. 6). Ebenso die Beobachtung, daß der sekundäre Anstieg der Atmung siliciumhaltiger Homogenate nicht lange anhält.

*Mitochondrien*, denen als Stoffwechselsubstrat Fumarsäure zugesetzt wurde, reagieren auf Hinzufügung von Siliciumdioxid (0,5—0,8%) mit starker Atmungsdepression.

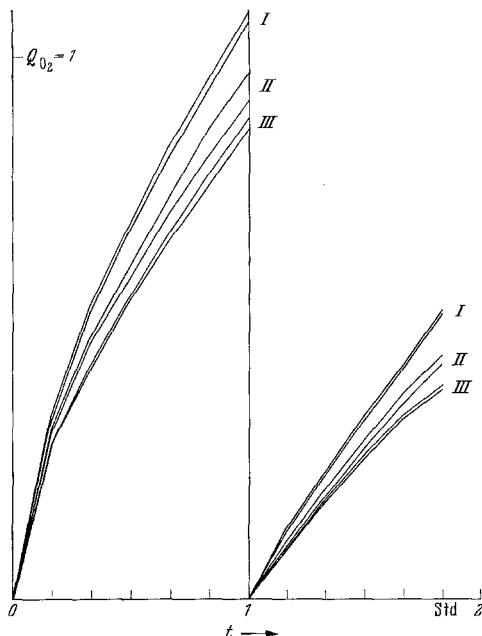


Abb. 7. Atmung von Leberhomogenat beim Zusatz von Siliciumdioxid verschiedener Teilchengröße. Siehe Text.

Das Ausmaß der Reaktion zwischen Siliciumdioxid und Serum ist von der Teilchengröße der Siliciumpartikel abhängig. Diese Beziehung findet sich auch im Atmungsversuch. Abb. 7 zeigt die Atmung von 6 Leberhomogenaten ( $p_H$  6,5), denen paarweis je eine Siliciumdioxidfraction bestimmter Teilchengröße zugesetzt worden war. Die verschiedenen Fraktionen wiesen gleiche Gewichtskonzentrationen auf. — Das Homogenat mit dem Zusatz der grobdispersen Fraktion (Kurve I) zeigt die intensivste Atmung, das mit dem feindispersen Zusatz die

geringste (Kurve III). Der Unterschied im Sauerstoffverbrauch von Homogenat I und III beträgt 20—25%.

Bei den Atmungsversuchen ist die adsorptive Beimengung von Elektrolyten in den Siliciumlösungen eventuell von erheblicher Bedeutung, ohne daß sich diese erfassen ließ. Zusätze von Titriplex (Merck) — das freie Schwermetallionen komplex binden und damit sonstiger biologischer Wirksamkeit entziehen soll — blieben ohne Einfluß auf die beschriebenen Ergebnisse (s. auch S. 424).

#### *Siliciumdioxid und Grundsubstanz.*

Es wurde untersucht, ob kolloidales Siliciumdioxid mit den Mucopolysacchariden der Grundsubstanz zu reagieren vermag.



Darstellung von Chondroitinsulfat und Hyaluronat aus Glaskörpern und Nabelschnüren, teils als Natrium-, teils als Calciumsalz (BLIX und SNELLMAN, K. MEYER, JEANLOZ und FORCHIELLI). Die gewonnenen Substanzen wurden in unterschiedlicher Weise von ihren Eiweißbeimengungen befreit (SEVAG). — Herstellung 1%iger Lösungen von einheitlichem  $p_H$  (6,0 bzw. 6,8). Mischung mit 1%iger Siliziumlösung gleichen Volumens und von gleichem  $p_H$ . In Kontrollen Zusatz von verdünntem Puffer, gegen den die Lösungen vorher dialysiert worden waren. 15 min Wartezeit, dann Viskositätsmessung.

Bei  $p_H$  6,0 liegen die Viskositätswerte der siliciumhaltigen Mucopolysaccharidlösungen 10—50% höher als bei den Kontrollen. Bei  $p_H$  6,8 sind die Unterschiede nur angedeutet, aber einheitlich.

Ein Vergleich von Chargen, die sich in ihrem Eiweißgehalt unterscheiden, zeigt, daß die eiweißhaltigen die höchste Viskositätssteigerung aufweisen. Bei hochgereinigten Präparaten ist die Reaktion nur mäßig stark ausgeprägt.

### *Viscosität und Diffusion.*

Zur späteren Deutung der in vivo-Ergebnisse bedarf der Einfluß der Viscosität auf die Diffusionsvorgänge einer kurzen Untersuchung und Betrachtung:

Die Menge an gelöster Substanz (in Mol), die in der Zeit  $dt$  bei einem bestimmten Konzentrationsgefälle  $dc/dx$  den Querschnitt  $Q$  passiert, errechnet sich nach FICK aus

$$dn = -D \cdot Q \cdot dc/dx \cdot dt.$$

Darin stellt  $D$  die sog. Diffusionskonstante dar, die mit dem Ausdruck der BROWNSchen Molekularbewegung wesensgleich ist, d. h. abhängig von der Temperatur  $T$ , der BOLTZMANNschen Konstanten  $K$  und der sog. Beweglichkeit der gelösten Partikel. Diese letztere resultiert aus der Partikelgröße, Partikelform (Achsenverhältnis!) und die Viscosität des Lösungsmittels. Für sphärische Partikel gaben EINSTEIN und SUTHERLAND die Berechnung von  $D$  an:

$$D = RT/N \cdot 1/6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot d,$$

worin  $N$  die LOHSCHMIDTische Zahl,  $d$  den Teilchendurchmesser und  $\eta$  die Viscosität des Lösungsmittels darstellt.

Aus den Formeln ist zweierlei zu entnehmen: Einerseits diffundieren die grobdispersen Silicium-Eiweißreaktionsprodukte auf Grund ihrer Größe und Form erheblich schlechter als die Reaktionspartner allein — andererseits erschwert die visköse Lösung der Reaktionsprodukte (wenn man sie als die ruhende Phase ansieht) die Diffusion anderer Stoffe. Dies wird deutlich an den Abb. 8 und 9, welche die Diffusion von gepuffertem Toluidinblau (1), Carmin (2) und Evans-Blue (3) in drei verschiedene Medien darstellen. Als solche wurden benutzt:

a) 2,5 Vol.-%ige Siliciumdioxidlösung in Wasser-, b) 2,5 Vol.-%ige Siliciumdioxidlösung in Wasser, Serumzusatz 1:20, c) 2,5 Vol.-%ige Siliciumdioxidlösung in Periston, Serumzusatz 1:20.  $p_H$  einheitlich 6,0. In Abb. 8 ist der Diffusionszustand nach 30 min, in Abb. 9 nach 24 Std dargestellt. Die Diffusion der Farbstoffe ist in der Siliciumdioxid-

Serummischung hochgradig erschwert, während die reine, sonst gleiche Siliziumdioxydlösung keine Diffusionsstörung erkennen läßt. Der Peristonzusatz verhindert trotz Serumanwesenheit einen Viscositätsanstieg der Mischung, auch in diesem Fall ist die Diffusion unbehindert (c).

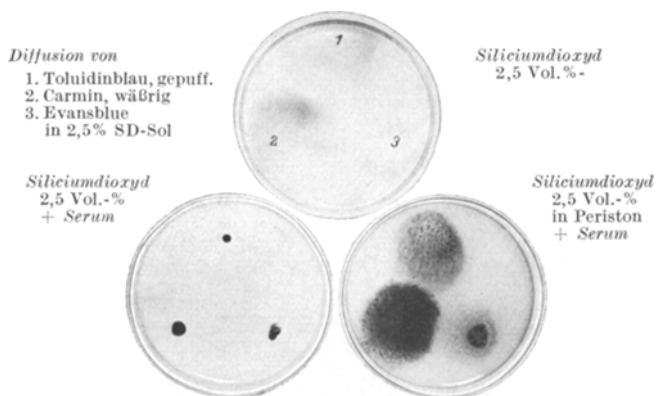


Abb. 8. Diffusionszustand nach 30 min. Siehe Text.

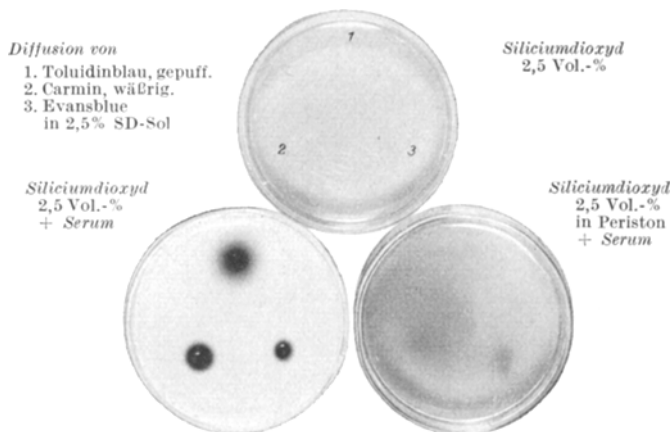


Abb. 9. Diffusionszustand nach 24 Std. Siehe Text.

#### *Das Wesen der Siliciumdioxyd-Reaktionsprodukte.*

Eine Charakterisierung der bisher beschriebenen Reaktionsprodukte bereitet naturgemäß Schwierigkeiten, handelt es sich bei den Reaktionspartnern doch um sehr wesensverschiedene, komplizierte Kolloide.

Bei der Mischung von Siliciumdioxydlösungen mit Serum bzw. Mucopolysacchariden kommt es im neutralen und sauren Bereich zu Trübungen und zur Bildung von stark viscösen Reaktionsprodukten. Diese weisen, je nach Konzentration der Partner,  $p_H$  und anderen Bedingungen

(Elektrolytbeimengungen!) entweder den Charakter von Fällungsaggregaten oder von Gelen auf. Damit steht in dem einen Fall eine Dispersionsverminderung im Vordergrund, im anderen Fall die Ausbildung von dreidimensional vernetzten Strukturen.

Die Dispersionsverminderung ist mit Ladungsänderungen der Teilchen, Beweglichkeitsverlust (Brownsche Molekularbewegung) und entsprechender Veränderung der Reaktionsfähigkeit verbunden (S. 422). Der Übergang bloßer Dispersionsverminderung zur Ausbildung von Gelstrukturen ist fließend. Die Strukturen sind zum Teil sehr labil und schon durch milde mechanische Einwirkungen zu zerstören.

Schon die Passage enger Capillaren führt eine partielle Strukturzerstörung herbei: Die Viscosität der Lösungen nimmt bei mehrfacher Capillarpassage zunächst stetig ab („labile Viscosität“), um sich erst allmählich einem konstanten Wert zu nähern, der sog. „stabilen Viscosität“ (OSTWALD und STUART). Damit äußert sich die Abhängigkeit der Viscosität von der „mechanischen Vorgeschichte“ (PHILIPPOFF).

Es gibt noch mehr Hinweise auf das Vorliegen von Strukturen in den Reaktionslösungen: Wird die relative Viscosität der Lösungen bei verschiedenen Schubspannungen<sup>1</sup> bestimmt, so ergeben sich bei ansteigenden Schubspannungen abfallende Viscositätswerte, die Fließgeschwindigkeit der Lösung in der Capillare ist also nicht dem anliegenden Meßdruck proportional (Abb. 10). Das heißt, daß man es nicht mit der konstanten und absolut bestimmbar Viscosität sog. NEWTONscher Lösungen, sondern mit sog. „Strukturviscosität“ zu tun hat, die immer dann auftritt, wenn während der Capillarpassage der Lösung in dieser eine Ausrichtung größerer, stabiler Linearpartikel oder eine Teildeformierung vernetzter Strukturen erfolgen muß. Viscosimetrische Feststellung von Strukturviscosität ist ein Hinweis auf das Vorliegen derartiger Bildungen.

Die „labile Viscosität“, die Form der sog. Fließkurven (Abb. 11) und das Bestehen einer Fließgrenze machen es wahrscheinlich, daß der Hauptfaktor der Viscosität im vorliegenden Fall eine gelartige Raumvernetzung der Partikel ist.

An sich sind Siliciumdioxid, Eiweißkörper und Mucopolysaccharide — jeder für sich — zur selbständigen Bildung solcher vernetzter Strukturen befähigt. Es spricht aber vieles dafür, daß in den beschriebenen Reaktionsprodukten *nicht nur* ein *Nebeneinander* derartiger, selbständiger Bildungen der einzelnen Komponenten vorliegt (die sich lediglich mechanisch gegenseitig immobilisieren), sondern *echte gegenseitige Bindungen*. An welchen Punkten die Verknüpfung von Siliciumdioxid und Eiweiß ansetzt, ist ungesichert. Neben salzartigen und ester-

<sup>1</sup> Die Schubspannung  $\tau$  ergibt sich aus  $r \cdot p/2 \cdot L$  worin  $r$  den Radius der Capillare,  $L$  deren Länge und  $p$  den Druck bedeutet, unter dem die Lösung durch die Capillare getrieben wird.

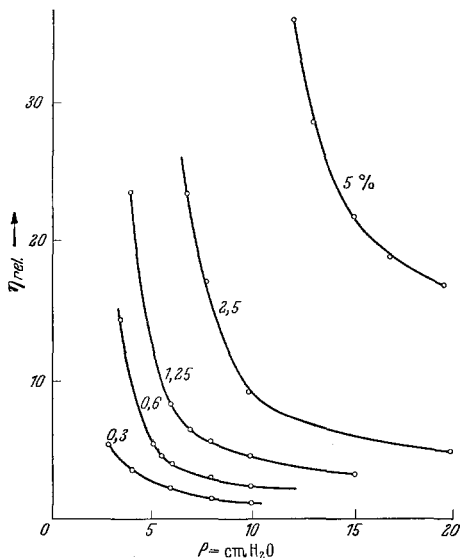


Abb. 10. „Strukturviscosität“ der Silicium-Eiweißlösung, s. Text. (pH 5,8, Serumzusatz 1:20.)

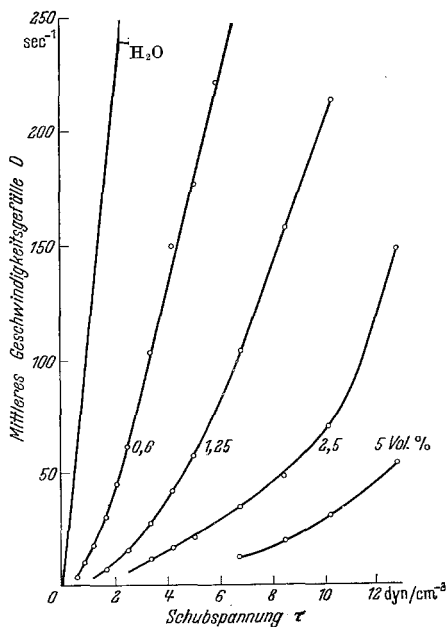


Abb. 11. Fließkurven der Silicium-Eiweißlösungen. Serumzusatz 1:20, pH 5,8.

artigen Bindungen ist vorwiegend mit Wasserstoffbrücken zu rechnen (R. JÄGER).

Nach W. KUHN liegen die rotationsellipsoiden Makromoleküle in geknäuelter Form vor. An den Knickpunkten dieses Knäuels besteht normalerweise freie Drehbarkeit. Geht diese verloren, so steigt die Viscosität. Derartige Verhältnisse liegen vielleicht u. a. auch bei der

Silicium-Eiweißassoziation vor. — „Labile“ und „stabile“ Viscosität wiesen schon darauf hin, daß die Bindungen unterschiedliche Festigkeit besitzen. Ein großer Teil von ihnen verhält sich auch allen Peptisationsbemühungen gegenüber resistent. Der Reaktionsvorgang muß als weitgehend irreversibel gelten. In welcher Weise das fermentative Herauslösen einer Komponente (Eiweiß bzw. Mucopolysaccharide) die zurückbleibende Siliciumkomponente einer Peptisation zugänglich macht, muß offen bleiben.

Die Reaktionsprodukte vermögen in den Maschen ihrer Strukturen erhebliche Mengen von Flüssigkeit aufzunehmen und zu immobilisieren. Mit der Zeit und durch Säuerung begünstigt, wird ein Teil dieser Flüssigkeit abgegeben, wobei die Reaktionsprodukte in Verfestigung übergehen (Synärese).

Den Siliciumdioxid-Eiweißstrukturen müssen erhebliche Adsorptionskräfte zugesprochen werden. Dies ist u. a. deshalb wichtig, weil einige Fermente bei Adsorption an Strukturen ihre Funktion einbüßen (zit. bei GRASSMANN und TRUPKE).

## II. Teil: In vivo-Untersuchungen.

Die im ersten Teil beschriebene kolloidale Siliciumdioxidlösung wurde *in vivo* auf ihren Gewebseinfluß untersucht. Es erfolgten subcutane Injektionen minimaler Dosierung unter die Rückenhaut von Ratten. Ferner wurden subcutan eingezogene Supramidfäden als Träger für Siliciumdioxid-Trockensubstanz benutzt.

Bei den Injektionsversuchen wurden auch verschiedene Zusätze auf ihren modifizierenden Einfluß hin geprüft (Ascorbinsäure, Heparin, Hyaluronsäure, Glucose, Polyvinylpyrrolidon).

Die Intervalle zwischen Siliciumdioxidapplikation und Gewebsentnahme wechselten zwischen 2 Std und 18 Tagen.

Die frisch entnommenen Gewebe wurden zum Teil in Alkohol fixiert, zum anderen Teil der Gefriertrocknung zugeführt (s. NEUMANN).

Die nach letzterem Verfahren behandelten Gewebsstückchen wurden vorwiegend zu morphologischen Kontrollen und zu Fermentnachweisen benutzt. Die gefriergetrockneten, trocken aufgezogenen Schnitte wurden in Petroläther entparaffiniert und 2—3 min mit Aceton anfixiert.

Folgende Färbeverfahren fanden Verwendung: Hämatoxylin-Eosin, van Gieson, PAS-Färbung und Hale-Färbung (beide für Mucopolysaccharide), Methylgrünpyroninfärbung für Ribonucleinsäure (BRACHET), Sulfhydryl-Gruppen-Darstellung (CHÈVREMENT und FRÉDÉRICQ). Nachweis saurer und alkalischer Phosphatase (GOMORI), Faserversilberung (GOMORI) und Nadi-Reaktion nach GRÄFF.

Bei der Beschreibung der Zellreaktionen wird absichtlich die sonst übliche Terminologie der Zellen weitgehend vermieden, da das Herausgreifen und Bezeichnen von *Durchgangsstadien* aus einer morphologischen Wandlungsreihe einer gewissen subjektiven Willkür unterworfen ist und zudem die Begriffe in uneinheitlicher Weise mit Funktionsunterstellungen verbunden werden. Die vorliegenden Untersuchungen zeigten nicht nur die Dynamik der Zellformen, sondern ließen darüber hinaus auch eine strenge Funktionszuordnung zu bestimmten Zellformen als unzulässig erscheinen.

### *Siliciumdioxidapplikation nach der Fadenmethode.*

*Methode.* Supramidfäden von 0,25 mm Durchmesser, deren Oberfläche chemisch aufgeraut worden war und zahlreiche Buchten aufwies, wurden nach Sterilisation in sterile 12%ige Siliciumdioxidlösung eingelegt, anschließend getrocknet und steril aufbewahrt. Die auf einem Faden von 1 cm Länge haftende Substanzmenge beträgt etwa 0,025 mg. Die Fäden besitzen keinerlei Saugfähigkeit, die Substanz ist lediglich an der Oberfläche vorhanden.

Einlage der Fäden unter die Haut: Hindurchführen einer Kanüle durch eine hochgehobene Hautfalte. Einschieben des Fadens in die freie Kanülenspitzenöffnung, Zurückziehen der Kanüle. Der entsprechend bemessene Faden verbleibt nach Spannung der Haut unter derselben. In dieser Weise ist die Fadenapplikation leichter als mit Nadelhalter und Nadel, vor allem lassen sich sterile Kautelen besser einhalten.

Um den Faden kommt es zur Bildung eines walzenförmigen Granuloms, das sich später leicht ablösen läßt.

Dieses Verfahren hat einige Besonderheiten gegenüber der Injektion:

Es kann eine Trockensubstanz appliziert werden, deren Wirkungseintritt langsamer erfolgt als bei gelöster Substanz. Zudem beansprucht sie die Lösungsmechanismen des Gewebes<sup>1</sup>.

Dadurch, daß die Wirksubstanz von dem morphologisch jederzeit darstellbaren Faden aus radiär ins Gewebe diffundiert, ist eine genaue Orientierung bezüglich der topographischen Reihenfolge lokaler Reaktionen möglich. Zentralem und peripherem Gebiet entsprechen definierbare zeitliche Wirkungsphasen des diffundierenden Stoffes.

Der Faden im Gewebe bildet ein gewisses, klar ersichtliches Spannungsfeld. Derartigen Spannungen schreibt man bei der Faserbildung zum Teil einen formenden Einfluß zu (HUZZELLA).

Schließlich gestattet der Faden, nachdem er bei der Entnahme des Gewebes aus diesem herausgezogen wurde, eine Eluierung der an seiner Oberfläche befindlichen Stoffe und durch deren Analyse eine Vorstellung über die Art der im Reaktionszentrum vorhandenen Reaktionsprodukte (soweit diese an den Faden herandiffundieren konnten). Im vorliegenden Falle erfolgte die Eluatanalyse durch Papierchromatographie.

### *Histologische Ergebnisse.*

Die geweblichen Veränderungen zeigen, entsprechend der vom Faden ausgehenden radiären Diffusion des Siliciumdioxids, ringförmige, konzentrische Anordnung. Da die Veränderungen vom Zentrum zur Peripherie nicht kontinuierlich erfolgen, sondern zum Teil sprungweise, erscheint es zweckmäßig, zur besseren Verständigung über die jeweilige Lokalisierung des beschriebenen Reaktionsablaufs eine Aufteilung des Reaktionsgebietes im Kreisringe vorzunehmen (Abb. 12). Diese werden nachfolgend im Text der lokalisierenden Beschreibung zugrunde gelegt. Der in der Zeichnung dargestellte periphere Gefäßring (aus 2 Halbringen) entsteht dadurch, daß der zwischen zwei vorhandene Gefäßschichten zu liegen kommende Faden diese halbkreisförmig nach peripher abdrängt.

Die Gewebsreaktion bei Fäden, die ohne Siliciumimprägnation blieben, ist innerhalb der Beobachtungszeit so gering, daß sie vernachlässigt werden darf.

Der *Reaktionsbeginn* ist durch geringe, polymorphzellige Entzündung in der Zentralzone gekennzeichnet. Leukocyten, Histocyten und zahlreiche Degenerationsformen sind zu beobachten. Es kommt zum Ersatz der ursprünglichen Fettvacuolen durch eine verwachsen aussehende, eosinophile Masse (van Gieson: gelb; PAS-positiv). In ihr liegen einige kurze Faserelemente, die offenbar von den Wandungen und Umspinnungen der verdrängten Fettzellen stammen. Die Isolierbarkeit dieser Fasern geht zum Zentrum hin verloren, hier besteht homogene Eosinophilie.

Es muß vorausgeschickt werden, daß der spätere Verlauf keineswegs einer leukocytären Entzündung entspricht. Die initiale, schon nach 1 Tag abklingende Phase ist als unspezifische Reaktion auf das Applikationstrauma aufzufassen.

<sup>1</sup> Die Lösung des Siliciumdioxids ist histologisch zu verfolgen. Die anfänglich sichtbaren Schuppen verschwinden nach einigen Tagen völlig.

Nach 1—2 Tagen ist das gesamte Fettgewebe im Umkreis durch eine sehr zarte, eosinophile, mäßig PAS-positive Substanz ersetzt. Letztere zeigt in der Zentralzone dichten, verquollenen Charakter — ohne Zeichnung —, wird in der Perizentralzone schollig, balkenförmig, und erst dann läßt sie eine feine Netzstruktur und die Einlagerung von groben, unregelmäßig gewellten Fasern erkennen. Während in der Zentralzone Degenerationszellformen in mäßiger Zahl vorherrschen (nur noch wenige frische Leukocyten), wird das Zellbild aller übrigen Zonen durch große, runde eosinophile Zellen mit runden oder nierenförmigen Kernen bestimmt. Sie finden sich in Buchten des eosinophilen Balkenwerks sowie teils frei, teils untereinander reticulär verknüpft. Diese zarte Verknüpfung zeigt sich einheitlich im fixierten und gefriergetrockneten Material. Die Verteilung der Zellen ist gleichmäßig und diffus in allen Zonen. Am Gefäßring deutet sich geringgradige Ablösung der perivascularären Mesenchymzellen an.

In den folgenden Tagen (2.—4. Tag) vollziehen sich die Hauptveränderungen in der Übergangszone und am Gefäßring. Diffuse Zellvermehrung durch sehr zahlreiche Mitosen. Starke Zellplasmavermehrung bis zu extremen Graden, am ausgeprägtesten am Gefäßstreifen. Dabei gehen die anfänglich runden Zellformen (mit allen Übergängen sichtbar) in birnenförmige, keulenartige und langovale Formen über. Diese großen plumphen Zellen weisen zum Teil einige kurze, stark konvergente Ausläufer auf. Sämtliche beschriebenen Zellelemente sind färberisch ähnlich, ihr Plasma färbt sich pyroninrot an, ist PAS-positiv und zeigt bei dieser Färbung leichte Körnelung. Die Kerne besitzen durchweg multiple (2—3), stark pyroninrote Nucleolen, die zum Teil die Größe von Lymphocyten erreichen. Die Intensität der beschriebenen Färbungen geht der Zellgröße annähernd parallel (Abb. 13).

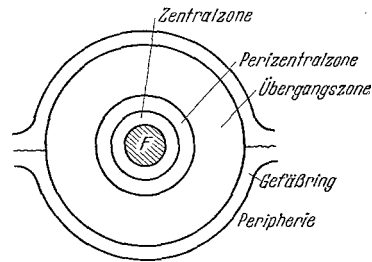


Abb. 12. Siehe Text.

In Perizentral- und Zentralzone sind inzwischen kaum Veränderungen eingetreten: Die mittelgroßen histiocytären Elemente zeigen vermehrt Kerndeformierungen, die Zellgrenzen verlieren ihre scharfen Konturen. Die formal unverändert gebliebenen Zellen zeigen jetzt kleine, pyroninrote Nucleolen.

An den Gefäßen der Peripherie sind erste Veränderungen nachzuweisen: Verquellungen der Grundsubstanz und Lockerung des Intimagefüges.

Um den 5.—7. Tag herum setzen wesentliche Veränderungen ein: Perizentral- und Übergangszone werden von sich verflechtenden Fibroblasten durchsetzt. Es zeigen sich alle formalen Übergänge zwischen den oben beschriebenen großen Rundzellen, den plumphen Zipfelzellen mit den extrem großen Nucleolen, typischen Fibroblasten und Fibrocyten (letztere sind noch selten). Es fällt das Fehlen von Mitosen auf, was die Annahme von Formumwandlungen stützt. Je zentraler das beobachtete Gebiet liegt, um so mehr überwiegen die großen, plumphen und ovalen Zellen, um so seltener werden die Fibroblasten.

Die färberischen Merkmale der großen, plumphen und zipfeligen Zellen wurden schon beschrieben. Je mehr sich die Formen über den Fibroblast zum Fibrocyt hin verändern — mit Plasmareduktion einhergehend —, um so schwächer werden Pyroninanfärbbarkeit, PAS-Positivität und um so kleiner werden die Nucleolen.

Soweit die Zellen längere Ausläufer besitzen, zeigen diese keine Ausrichtung, sie durchflechten sich vielmehr regellos.

Fleckförmig verteilt finden sich kleine, in Hyalinisierung übergehende Bezirke, die zum Teil Reste faseriger Grundstrukturen erkennen lassen (Abb. 17).

Außer den beschriebenen Veränderungen in den Mittelzonen, die allerdings am eindrucksvollsten sind, weisen auch Zentralzone und Gefäßring Besonderheiten auf.

Die teils schollige, teils homogene, verquollene Matrix der Zentralzone enthält nur noch Degenerationszellformen, von denen zum Teil nur noch die deformierten Kerne sichtbar sind, während sich ihr Cytoplasma nicht mehr von der Umgebung unterscheidet. In einigen Bereichen tritt erstmalig das Glanzphänomen auf (s. unten). Im Gefäßstreifen sind alle Übergangszellformen verschwunden. Statt dessen beherrschen Fibrocyten mit schon zirkulärer Ausrichtung und lamellärer Verdichtung sowie große Ovalzellen das Bild.

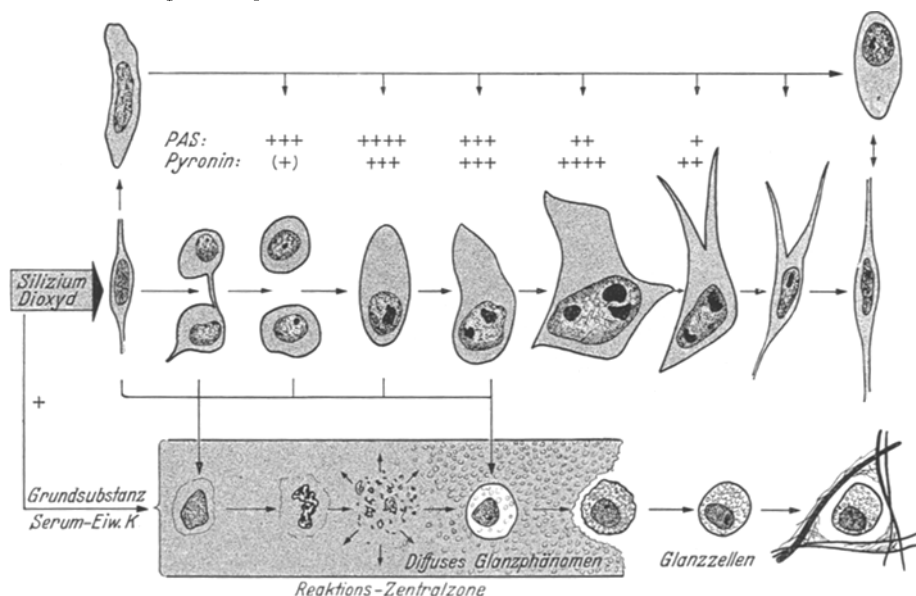


Abb. 13. Zelltransformation der Bindegewebszellen. Entstehung der Glanzzellen.

Allmählich (7.—10. Tag) stellt sich auch in Übergangs- und Perizentralzone die gleiche Einheitlichkeit des Zellbildes ein: Fibrocyten und Ovalzellen stellen die Hauptzahl der Zellen. Zellplasmen und Nucleolen erfahren eine Reduzierung an Größe und Färbbarkeit.

In der Zentralzone vollziehen sich jetzt wesentliche Umordnungen: Nachdem die großen runden Histiocyten, die in der zentralen, kompakt-scholligen Masse lagen, zunehmend ihre Zellkonturen verloren hatten, sich schließlich gar nicht mehr von der Matrix abhoben, lösen sie sich nun von dieser sie umhüllenden Masse ab. An der Peripherie jeder derartigen Zelle zeigt sich ein feiner Spalt zwischen ihr und der Umgebung, der sich zunehmend verbreitert, daß die Zellen schließlich in optisch leeren Höhlen liegen (Abb. 14). Diese Zellen, die dort, wo sie zahlreicher sind, pflastersteinartig dicht gepackt sind unter völligem Verlust intercellulärer Matrix, weisen stärkste PAS-Positivität auf, ihr Plasma färbt sich stark mit Pyronin an und zeigt in allen Färbungen eine feinwabige Beschaffenheit (Abb. 15). Die meist exzentrisch gelagerten, mittelgroßen Kerne besitzen kleine Nucleolen. Die beschriebenen Zellen zeigen das „Glanzphänomen“.



Dieses besteht darin, daß bei stärkerer Abblendung und Kondensormittelstellung das Plasma dieser Zellen ganz elektiv silbrig funkelt — nicht homogen, sondern feinkörnig. Diese optische Erscheinung tritt erstmalig, nach etwa 6 Tagen, diffus in Zentral- und Perizentralzone auf, zu einer Zeit, in der an diesen Stellen ein mäßiger Untergang histiocytärer Zellen nachweisbar ist. Einige Tage später

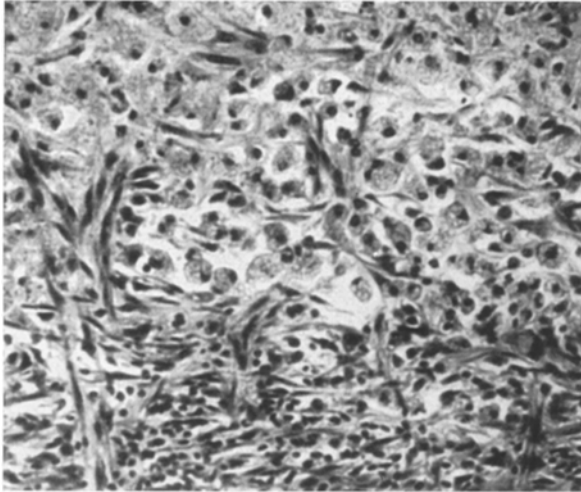


Abb. 14. Glanzzellen-Ablösung.

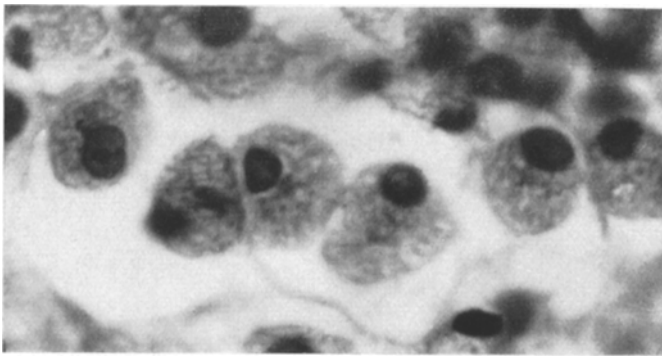


Abb. 15. Glanzzellen.

findet sich das Glanzphänomen nicht mehr intercellulär, sondern nur noch intracellulär in den beschriebenen Zellen, die im folgenden als „Glanzzellen“ bezeichnet werden.

(Mischt man Siliciumdioxidlösung mit Serum und Mucopolysacchariden bei  $p_H$  6—6,5, trocknet die visköse Lösung mit Glycerin und fixiert sie dann wie Gewebe, so zeigt die HE-Färbung eines in gewohnter Weise hergestellten Schnittes die gleichen optischen und färberischen Eigentümlichkeiten.)

Von peripher her dringen in den Bereich der Glanzzellen Angioblastenzüge und vereinzelt Fibroblasten ein. Einige der letzteren zeigen, stark vermindert, ebenfalls ein Glanzphänomen.

Innerhalb der folgenden Tage (10.—14. Tag) kommt es zu einer Verdichtung und lamellären, zirkulären Ausrichtung der Fibrocyten und Faserzüge sowie zu weiterem Übergang der aktivierten Zellen in Fibrocyten oder kleine Histiocyten. Nucleolen schwinden. Lediglich die sich immer mehr dem Zentrum nähernde Kontaktzone zwischen dem neugebildeten Bindegewebe und den Glanzzellen ent-

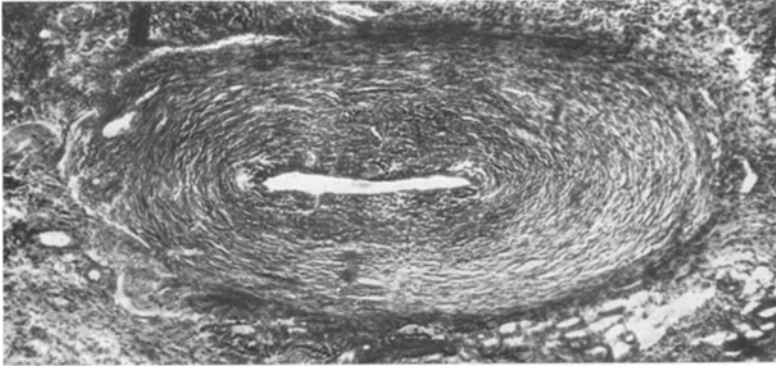


Abb. 16. Endzustand der Fadenversuche, nach 18 Tagen. H.-E.-Färbung.

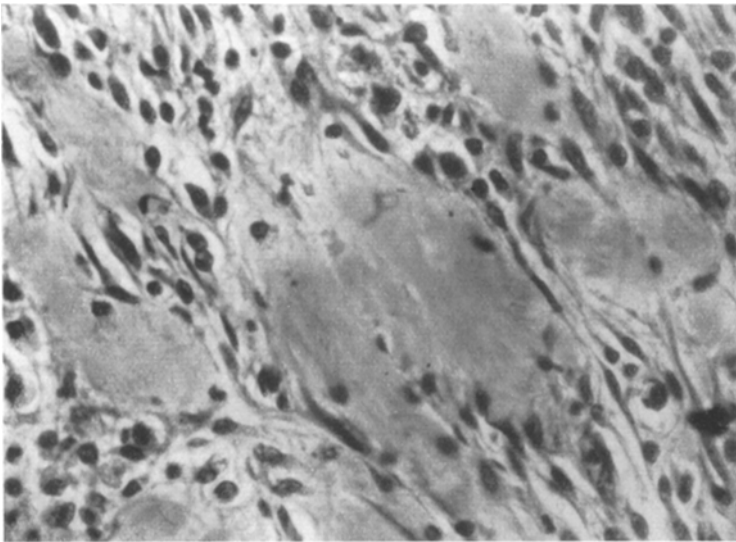


Abb. 17. Hyaline Bezirke.

hält noch alle oben beschriebenen großen, plasma- und nucleolenreichen Übergangs- und Aktivierungsformen.

Da die Glanzzellen allmählich durch einsprossende Fibroblasten voneinander getrennt und isoliert werden, liegen sie schließlich vereinzelt oder zu mehreren inmitten eines Faserkörbchens oder in den Maschen fibrocytärer Verflechtung (Abb. 13, 14). Während der weiteren Beobachtungszeit lassen sich an ihnen keine Veränderungen feststellen. Man findet sie immer weiter peripher. Das Zentrum ist schließlich frei von ihnen.

Als Endzustand der Beobachtung, nach 18 Tagen, liegt ein zirkulär aufgebautes Bindegewebe aus sehr eng lamellär geschichteten Fibrocyten und ruhenden Histiocyten vor. Die zirkulären, konzentrischen Faserzüge sind untereinander auch quer vernetzt, so daß eine wabige Struktur entsteht, in deren Räumen sich, fast vorwiegend in der Übergangszone, die Glanzzellen nachweisen lassen (Abb. 16). Fleckförmige Hyalinisierung (Abb. 17). Keine Zellzerfallsvorgänge. Es scheint ein stationärer Zustand vorzuliegen. Aktivierte Zellformen finden sich nur in der sehr schmalen, der Fadenoberfläche zugewandten Kontaktzone. Hier liegen,

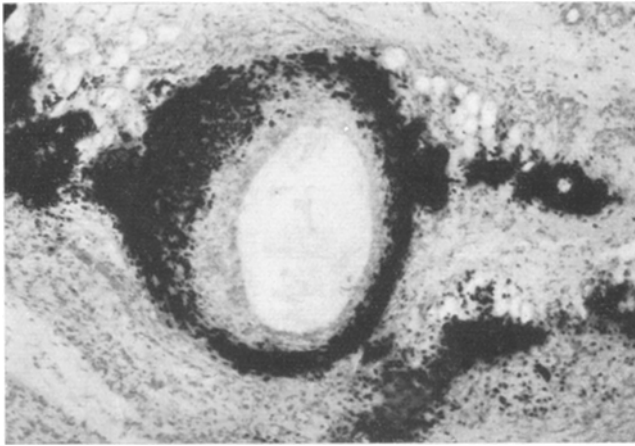


Abb. 18. Nachweis saurer Phosphatase (GOMORI). Fadenversuchsreihe. Gefrieretrocknung.

in 1—2schichtiger Anordnung, große zipfelige Zellen, Ovalzellen und vereinzelt Fibroblasten. Diese Zellformen sind weitgehend vom Spannungszustand des Zentrums abhängig (s. S. 452).

Über Fasern und Grundsubstanz s. unten.

#### *Fermentdarstellungen an gefriergetrockneten Präparaten.*

Die Verteilung der *sauren* Phosphatase zeigt Abb. 18 (Zustand am 8. Tag). Das Ferment zeigt sich zuerst in den Zellen des peripheren Gefäßstreifens. Von dort aus dringt sie langsam nach zentral vor, etwa immer so weit, wie gerade die Capillarsprossen gelangt sind. Es gelang nicht, die Phosphatase im Zentrum darzustellen, auch nicht nach längerer Inkubation der Schnitte. Gebiete, die das Glanzphänomen aufweisen, zeigen neben der zellgebundenen Positivität auch diffuse, feinkörnige Anfärbung. (Adsorption der Fermente an die Siliciumdioxid-Reaktionsprodukte ?)

Die *alkalische* Phosphatase läßt sich im Gegensatz zur sauren nicht in der Peripherie, sondern vorwiegend im Zentrum und der Perizentralzone nachweisen. Intracelluläre und extracelluläre Lokalisierung. Vor allem die Glanzzellen erscheinen stark positiv, weniger die großen, polymorphen Zellen und nur angedeutet die Fibroblasten und Fibrocyten. Die Verwertbarkeit dieses Befundes ist begrenzt, da damit gerechnet werden muß, daß das verwendete Siliciumdioxid Spuren von

Magnesium adsorbiert enthält. Diese üben eine starke, aktivierende Wirkung auf die alkalische Phosphatase aus. Dafür spräche die besonders ausgeprägte Positivität der Phagocyten! Es ist aber eigentümlich, daß mehrfach dies hier beschriebene gegensätzliche Verhalten der Phosphatasen gefunden wurde, unabhängig von dem von uns verwendeten Präparat (MARZANI und Mitarbeiter).

Untersuchungen der Gewebe auf Sulfhydrylgruppen ergab keine wesentlichen Befunde. Die Zellen der zentralen Zonen zeigen gegenüber den peripheren Zonen einen abgeschwächten Gehalt. Im gleichen zentralen Bezirk ist dagegen eine diffuse, intercelluläre Positivität nachweisbar.

Auch die Nadi-Reaktion nach GRÄFF, mit der die Funktionsfähigkeit der Warburg-Keilin-Atmungskette nachweisbar sein soll (SCHÜMMELFEDER, LANG), lieferte diese intercelluläre, diffuse Positivität in der Zentralzone, während die übrigen Gebiete eine einwandfreie, streng an die Zellen gebundene und gleichmäßig intensive Darstellung der Fermente zeigen.

### *Ergebnisse der Injektionsversuche.*

*Methodik.* Das im Teil I beschriebene kolloidale Siliciumdioxid wurde nach Dialyse in unterschiedlicher Konzentration (0,05%, 0,3% und 0,7%) subcutan unter die Rückenhaut von Ratten injiziert. Jeweils nur einmalige Injektion (0,25 bis 0,4 cm<sup>3</sup>), um Wirkungsüberlagerungen zu vermeiden. Das Reaktionsgewebe wurde nach verschiedenen Intervallen (2 Std bis 18 Tage) entnommen und histologisch untersucht.

Isotonische Einstellung der Lösung durch indifferente Zusätze (Glucose) blieb ohne Einfluß auf die Reaktion und wurde später unterlassen.

*Der Reaktionsablauf* zeigt gegenüber dem der Fadenversuche nur geringe Abweichungen, diese in konstanter Weise. Es kann auf Einzeldarstellungen verzichtet und gleich auf die Unterschiede hingewiesen werden.

Alle Vorgänge bis zum Auftreten der Fibroblasten laufen etwa 2—3mal so schnell ab wie bei den Fadenversuchen. Die Zellinfiltration im Zentrum ist erheblich intensiver, es handelt sich um ein gemischt leukocytär-histiocytäres Infiltrat. In ihm kommt es bald und ausnahmslos zu Degenerationserscheinungen an den Zellen und zu deren Untergang. Nach 2—3 Tagen hat Demarkation des Zentrums stattgefunden. Das Zentrum besteht vorwiegend aus Zelltrümmern und einer eosinophilen, PAS-positiven Masse, die teils homogen erscheint, teils feinstfädige Struktur erkennen läßt oder scholligen Charakter hat. Am Rand des nekrobiotischen Zentrums ist eine schmale, verstärkt PAS-positive Zone, in der noch vitale, mittelgroße Histiocyten liegen. Diese Zone zeigt, deutlich nach 2 Tagen, diffuses Glanzphänomen. Aus ihr lösen sich vom 3.—4. Tag ab die schon beschriebenen Glanzzellen nach peripher ab. — In den gleichen Randsaum sprossen — an den Glanzzellen vorbei — von peripher her Fibroblasten ein (Abb. 14). Letztere bilden also in diesem Fall die vordere Linie, die bei den Fadenversuchen von den großen polymorphen Zellen gebildet wurde, welche sich erst langsam in Fibroblasten umformten. — Die intercellulären Glanzpartikel sind

weitverbreitet, sie finden sich schon sehr frühzeitig und zum Teil unabhängig von Zellzerfall, z. B. perivascular. Die gesamte Glanzmasse geht innerhalb von 4—5 Tagen in die Glanzzellen über. Diese färben sich im Gegensatz zu denen der Fadenversuche (denen sie formal völlig gleichen) nicht oder nur sehr schwach pyroninrot an. Sie weisen vom 8. Tag an Metachromasie auf (Toluidin), auch mit der Hale-Färbung sind Mucopolysaccharide in granulärer Form in den Glanzzellen nachweisbar.

#### *Grundsubstanz und Faserbildung.*

In beiden Versuchsreihen verläuft die Gewebsreaktion mit erheblicher Produktion von Mucopolysacchariden, die mit der PAS-Färbung, der Hale-Färbung und mit Metachromasiereaktionen nachweisbar sind. Zuerst treten sie im Gefäßstreifen auf, peripher, wenn dort die Vermehrung und Ablösung der mesenchymalen Zellen erfolgt. Das Vordringen dieser Zellen nach zentral ist vom gleichzeitigen Fortschreiten der Mucopolysacchariddarstellbarkeit begleitet. Nach 10—18 Tagen ist das Zentrum erreicht, es färbt sich nach HALE stark blau. — Der Nachweis der Mucopolysaccharide in den peripheren Partien ist nun, je nach Färbemethode, uneinheitlich: In der Hale-Färbung, die als spezifischer als die PAS-Reaktion gelten darf, ist die Produktion der Mucopolysaccharide nur auf die jeweils vorderste, nach zentral vordringende Zellzone beschränkt, hinter ihr kommt es wieder zur Abblassung der Färbung. Dies hieße, daß die produzierten freien Mucopolysaccharide schnell Bindungen oder andere Umwandlungen eingehen. In der PAS-Färbung bleibt die Positivität erhalten und ist vor allem peripher stark ausgeprägt. Auch intracellulärer Nachweis der Stoffe ist von der Darstellungsmethode abhängig: Die PAS-Reaktion ist an allen plasmareichen, polymorphen Zellen des Granulationsgewebes positiv, ferner besonders stark auch in den Glanzzellen. Letztere sind die einzigen, in denen sich mit der Hale-Färbung in granulärer Form Mucopolysaccharide nachweisen lassen. Die gleichen Zellen zeigen auch Toluidin-Metachromasie. Ob diese Zellen durch Produktion von Mucopolysacchariden oder nur durch deren Aufnahme (z. B. als Reaktionsprodukte mit Silicium) positiv erscheinen, sei dahingestellt.

Die Faserbildung vollzieht sich in beiden Versuchsreihen formal gleich. Bei Reaktionsbeginn liegen grobe, kurze Kollagenfasern im Reaktionsgebiet vor, diffus verteilt. In der Nähe des Applikationszentrums werden sie opak, bekommen verwaschene, verquollene Konturen und sind schließlich nur noch als grobscholliges, balkenförmiges Maschenwerk sichtbar. Peripher bleibt die normale Struktur erhalten. Mit zirkulärer Ordnung des Zellbildes und dem Auftreten zirkulärer Spannungen (Zellvermehrung, Exsudat, Faden) richten sich die Faser-

elemente konzentrisch aus. Vom 3. Tag ab sind zwischen diesen präformierten Fasern in netzförmiger Weise feinste Fäserchen sichtbar, die sich versilbern lassen und sich mit Pikrofuchsin gelb färben, dann, in den folgenden Tagen, unter Verdichtung und Zusammenschluß mehrerer feiner Elemente zu größeren Rotfärbung oder Orangefärbung annehmen. Schließlich stellen sie, eng mit den präformierten Fasern verflochten, ein konzentrisch ausgerichtetes Maschenwerk dar, in dessen Waben die Glanzzellen liegen. An Stellen, an denen Glanzzellen gehäuft auftreten, bleibt die Faserbildung zunächst aus. Zur Zeit des ersten Auftretens der feinen Fäserchen wird das Zellbild zumeist noch nicht von typischen Fibroblasten bestimmt, sondern von den plasmareichen, zipfeligen und plumpen Transformationsformen, die sich durch starke Pyroninanfärbbarkeit, große Nucleolen und starke PAS-Positivität auszeichnen. — Die Reifung der Fasern zeigt sich zumeist in den Zonen, in denen sich auch Mucopolysaccharide nachweisen lassen.

Eine Beziehung zwischen Faserrichtung und mechanischen Spannungsverhältnissen wird vor allem bei den Fadenversuchen offensichtlich. Sind für die feinsten Fäserchen benachbarte, präformierte Strukturen die Haftpunkte, so stellen später die grobmechanischen Zugspannungen das formende Prinzip für die Aneinanderlagerung feiner Fasern und deren zirkuläre Ausrichtung dar.

#### *Beeinflussung der Siliciumdioxydwirkung durch Zusätze.*

Den Mischungen liegen die schon beschriebenen Siliciumdioxydlösungen zugrunde.

Zusätze von *Glucose* (5,4%), *Ascorbinsäure* (Cebion, 5%ig) und *Heparin* (1000 IE je Siliciumdioxydinjektion) blieben ohne eindeutigen Einfluß auf die Gewebsreaktion.

Ein 2%iger Zusatz von *Polyvinylpyrrolidon* (BASF) dagegen führt zu eindrucksvoller Modifizierung der Reaktion:

Die Gewebsreaktion ist räumlich stark vermindert, ihre Ausdehnung in die Tiefe beträgt höchstens ein Viertel der sonst beobachteten, hingegen ist sie parallel der Gewebsschichtung nicht vermindert, eher noch erweitert (embathischer Effekt des P.?).

Die Reaktion verläuft zeitlich stark verändert: Schon nach 48 Std ist ein stationärer Zustand eingetreten, der sich gegenüber dem nach 14 Tagen kaum unterscheidet. Das 48 Std-Bild ist, trotz der kurzen Zeit, das eines straffen, dichten und wirbelartig gewellten Bindegewebes, das Fibrocyten und, sehr zahlreich, kleine Histiocyten enthält. Die Fasern zeigen Ausreifung (Abb. 19 und 20). Zelluntergänge sind kaum zu beobachten. Leukocyten vereinzelt. Intercelluläre Koagulationsprodukte sind nicht nachweisbar, überhaupt ist die Menge intercellulärer

Substanz gering. Intercelluläre Glanzpartikel sind nicht vorhanden, dagegen finden sich typische Glanzzellen, nicht wie bisher frei, sondern straff zwischen den Fasern eingeschlossen (Abb. 21). Auch einige typische Fibrocyten zeigen das Glanzphänomen.

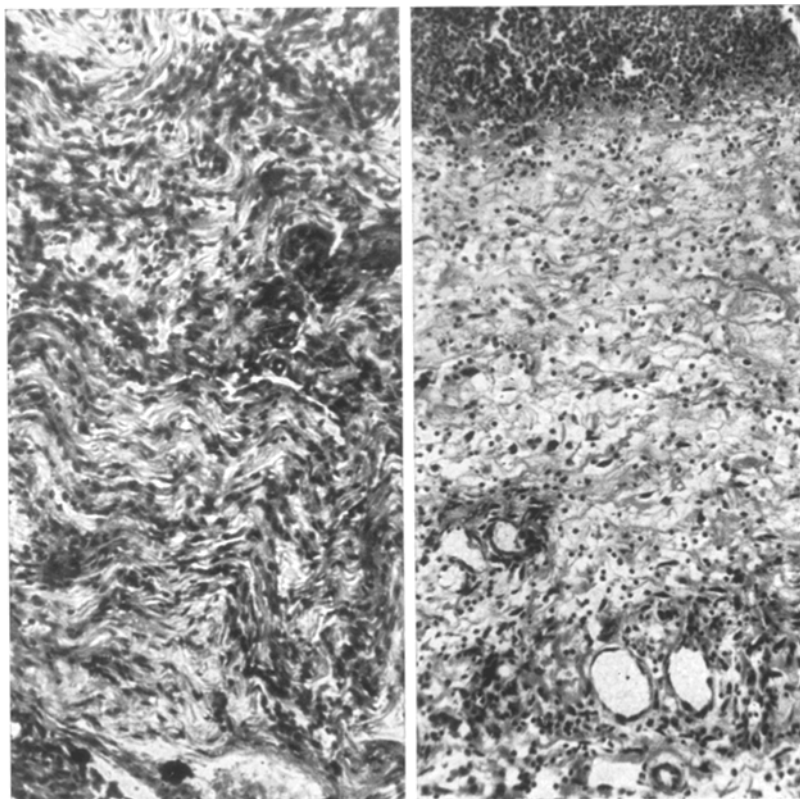


Abb. 19.

Abb. 20.

Abb. 19 u. 20. 48 Std nach Injektion von Silicium-Dioxyd-Kollidon (links) bzw. Siliciumdioxyd ohne Kollidon (rechts). In Abb. 19 ist das Reaktionsgebiet in seiner ganzen Breite erfaßt. Siehe Text.

Der Zellreichtum läßt nach 1—2 Wochen nach, das Fasergewebe wird noch straffer und dichter.

Die Injektion größerer Mengen (4,0 cm<sup>3</sup>) bzw. höherer Siliciumdioxyd-konzentration (1,2%) ändert nichts an diesen beschriebenen Abweichungen, auch dann bleiben Nekrosen und intercelluläre Koagulationsprodukte aus oder sind nur angedeutet.

Auch Zusätze von *Hyaluronsäuren* verschiedenen Polymerisationsgrades verändern die Reaktion des Gewebes:

Die hochpolymeren, stark viscösen Hyaluronatzusätze (s. S. 427) verhindern das Auftreten von intercellulären Koagulationsprodukten,

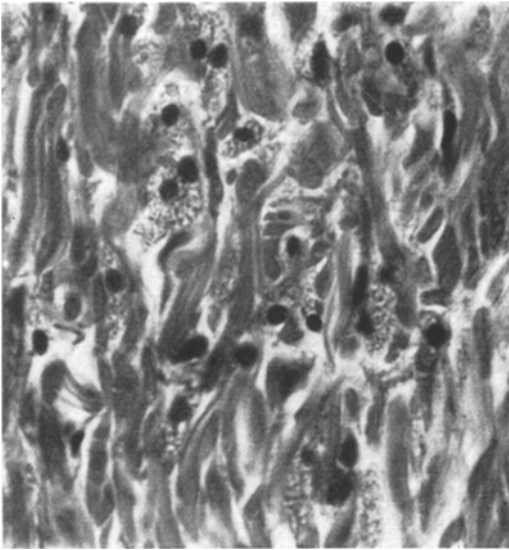


Abb. 21.  
Glanzzellen zwischen Kollagenfasern eingeschlossen.

das Interzellulärmedium bleibt homogen, zart, in ihm liegen, mäßig zahlreich, vorwiegend undifferenzierte mittelgroße Zellen, die sich weitgehend von der sonst üblichen Polymorphie unterscheiden. Fibroblasten sind selten, Faserbildung kaum ausgeprägt. Auffallend sind zahlreiche Riesenzellen vom LANGHANSschen Typ, deren Plasma zum Teil das Glanzphänomen bietet. Die sonst gewohnten Glanzzellen fehlen (Abb. 22).

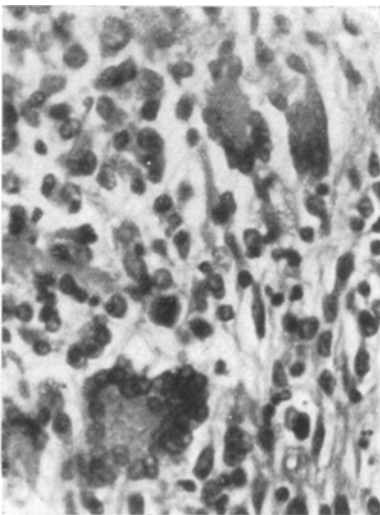


Abb. 22. Riesenzellen bei Injektion von Siliciumdioxid-Hyaluronsäure.

Die depolymerisierten Hyaluronate (Kinetinzusatz, dann, nach Depolymerisierung Inaktivierung des Ferments) haben nicht diese Wirkung, sie ändern den vorwiegend bindegewebigen Umbau des Reaktionsgebietes nicht. Lediglich begünstigen sie offenbar die Entstehung der hyalinen Inseln, die sich erheblich zahlreicher als sonst finden, vor allem die peripheren Reaktionsgebiete durchsetzen.

#### *Chromatographische Analyse des Eluats der Fadenoberfläche.*

Die Fadenoberfläche stellt den eigentlichen Kontakt zwischen Wirkungssubstanz und Reaktionsgewebe dar. Von ihr diffundiert nicht nur das Siliciumdioxid ins Gewebe,

sondern an ihr dürften sich auch umgekehrt die löslichen und diffundierenden Stoffe aus der unmittelbaren Umgebung anlagern. Verän-



derungen in der Zusammensetzung des intercellulären Milieus bzw. das Neuauftreten von Stoffen lassen sich zum Teil an Hand der Analyse dieser dem Faden anhaftenden Stoffe beurteilen.

Die Fäden wurden deshalb nach Gewebsementnahme aus den Granulomen herausgezogen, die anhaftenden Stoffe eluiert und der Hydrolyse (für Aminosäurenanalyse) sowie nachfolgender Papierchromatographie zugeführt.

Chromatographie nach den Angaben von CRAMER und ZAHN. Darstellung von Aminosäuren (Ninhydrinreaktion), speziell von Prolin und Oxyprolin (Isatinreagens) und von Acetyl-Glucosamin (Morgan-Elson-Reaktion). Papier Schleicher-Schüll 2043 b.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt. In einer Spalte sind die Werte der Kollagen- und Prokollagenzusammensetzung aufgeführt (BROWN, KELLY, WATSON).

Man beachte die nur anfänglich erhöhten Prolin- und Oxyprolinwerte, die mit der Zeit ansteigenden Werte für Arginin und Lysin sowie des Acetylglucosamins (Komponente der Mucopolysaccharide). Letztere sind zum gleichen Zeitpunkt auch histochemisch am Fadenrand nachweisbar.

Tabelle 1.

Aminosäuren	1,5	3	4,5	6	7,5	9	10,5	12	Pro- kol- lagen	Kol- lagen
	Intervall-Tage								%	%
Asparagin-S. .	++	+++	++	++	++	++	++	++	3,3	3,9
Alanin . . .	++	++	++	++	++	++	++	++	7,9	10,6
Arginin . . .		+	+	+	+	+	+	++	16,7	12,8
Cystin . . .	++	+	+	+	+	+	+	+		
Glutamin-S. .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
Glycin . . .	+++	+++	++	++	++	++	++	+++	6,4	6,5
Lysin . . .	+	++	++	++	++	+++	++	+++	28,7	30,3
Oxyprolin . .	++	+	+++	++	+	+	+	+	13,0	8,6
Prolin . . .	+++	+	++	+	++	+	+	++		11,4
Serin . . .	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++		3,1
Threonin . .	+	+	+	+	+	+	+	+		1,7
Acetylglucos- amin . . .		+	+	++	++	+++	+++	++		

### Zusammenfassung und Bewertung der Ergebnisse<sup>1</sup>.

Kolloidales Siliciumdioxid wurde in minimaler Dosierung unter die Rückenhaut von Ratten appliziert und die Gewebsreaktion histologisch, histochemisch und (im Reaktionszentrum) chromatographisch verfolgt.

<sup>1</sup> *Silikose und Faserbildung*, die Randgebiete des Themas, können aus Raumgründen nur soweit Berücksichtigung erfahren, als sie mit den eigenen Ergebnissen in unmittelbarem Zusammenhang stehen. Im übrigen muß auf die einschlägige Literatur verwiesen werden (v. ALBERTINI, DI BIASI, GÄRTNER, GERSTEL, GIESE, GYE und PURDY, HOLZAPFEL, HUSTEN, JÖTTEN, KING, KOPPENHÖFER, SIEGMUND, DOLJANSKI und ROULET, HUZELLA, MAXIMOW, RANDALL, RANDEPATH, SCHMITT, HALL und JAKUS, STUDNICKA, WASSERMANN, WOLPERS u. a.).

Die gleiche Siliciumdioxidlösung wurde *in vitro* auf ihre Reaktionsfähigkeit mit Serum-Eiweißkörpern, Grundsubstanz, Fermenten und Gewebshomogenaten untersucht. Die dabei feststellbaren Reaktionen verlaufen unter Bedingungen, wie sie auch *in vivo* gegeben sein dürften.

Es erscheint deshalb der Versuch gerechtfertigt, die histologischen Ergebnisse mit Hilfe der *in vitro*-Erkenntnisse zu deuten. Dies gelingt für einen großen Teil der Gewebsveränderungen in zwangloser Weise, ohne daß es die Mitwirkung weiterer, hier nicht berücksichtigter Faktoren ausschließt.

Die gegebene Darstellung hat nur für das vorliegende, kolloidale Siliciumdioxid strenge Gültigkeit. Für kristallinische Modifikationen sind wahrscheinlich andere Wirkungsmechanismen anzunehmen (BEGER, HOLZAPFEL, JÄGER, JÖTTEN, KOPPENHÖFER, SCHUMACHER, SIEGMUND), lediglich für ihre kolloidal in Lösung gehenden Anteile dürften die nachfolgenden Ausführungen zutreffen und damit *einen* Wirkungsfaktor kristallinischen Siliciumdioxids beleuchten.

Bei der ersten Reaktion zwischen kolloidalem Siliciumdioxid und den genannten Gewebskomponenten entstehen *in vitro* vermindert disperse, viscöse Reaktionsprodukte. Diese besitzen je nach Reaktionsbedingungen, Art und Konzentration der beteiligten Partner entweder den Charakter von Fällungsaggregaten oder von Gelkörpern. Nur in wenigen Fällen bleibt der echtkolloidale Zustand erhalten, doch auch dann ist viscosimetrisch bereits eine Teilchenvergrößerung oder Vernetzung nachweisbar (s. I. Teil der Arbeit).

Die beteiligten Reaktionspartner erleiden also teils durch echte Bindungen, teils durch mechanische Immobilisierung (Inklusion in der Fällungs- und Gelstruktur) und vor allem durch die Verminderung ihres Dispersionsgrades einschließlich Ladungsverlust wesentliche Veränderungen, die sich unterschiedlich auswirken. Das Siliciumdioxid büßt bei der Primärreaktion einen Teil seiner weiteren Reaktionsfähigkeit mit Eiweißkörpern ein (s. S. 422).

Kolloidfraktionen verschiedener Teilchengröße, die mit der Ultrazentrifuge gewonnen wurden, besitzen unterschiedliche Wirksamkeit. Die grobdispersen Fraktionen erweisen sich im Gegensatz zu der polydispersen Ausgangslösung und den feindispersen Fraktionen als weitgehend indifferent gegenüber Eiweiß (S. 422).

Auch längere Erwärmung, ausgiebige Dialyse und Alterung des Sols vermindern Dispersionsgrad, Ladung und akute Wirksamkeit des Siliziumdioxids.

Ein großer Teil der im Teil I beschriebenen Reaktionen ist offenbar an eine ganz bestimmte, feinkolloidale Verteilung und an das Vorhandensein freier Ladungen gebunden (Ioneneinfluß s. S. 423).

Es erscheint deshalb von Bedeutung, ob das Siliciumdioxid schon *vor* seiner Berührung mit Zellen oder Fermenten primär mit anderen,

weniger wichtigen intercellulären Stoffen unter Dispersionsverminderung zu reagieren vermochte. Gelegenheit zu derartiger Reaktion ist vor allem im Gebiet eiweißhaltiger Extravasate gegeben.

Ein Deutungsversuch der Siliciumdioxydwirkung hat also neben den mitgeteilten Ergebnissen die topographischen Beziehungen zwischen Applikationsort, Gewebsbestandteilen, Gefäßen und Exsudaten sowie intercelluläre Vorgänge zu berücksichtigen. Nur so ergeben sich die jeweils wirksamen Eigenschaften und Konzentrationen des Siliciumdioxys.

Bei der folgenden Darstellung sind die topographischen Verhältnisse und Ergebnisse der *in vivo*-Versuche zugrunde gelegt, nicht etwa Verallgemeinerungen vollzogen.

#### *Intercelluläre Vorgänge.*

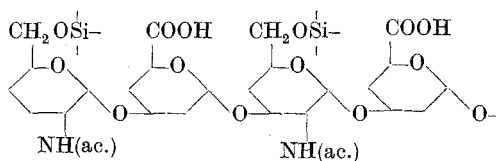
Vom Applikationsort aus diffundiert das kolloid-disperse Siliciumdioxyd in die Peripherie. Es kommt dabei in Kontakt mit Fetten, Lipoiden (subcutanes Gewebe!), Grundsubstanz und Faserelementen.

Über Reaktionen mit den ersteren liegen keine eigenen Untersuchungen vor. Nach HOLZAPFEL, KOCH, HALDANE und KING ist die Existenz esterartiger Silicium-Lipoidverbindungen wahrscheinlich, vor allem bei Anwesenheit von Sauerstoff.

Die *Mucopolysaccharide* der Grundsubstanz reagieren *in vitro* unter deutlicher Viscositätssteigerung mit kolloidalem Siliciumdioxyd (S. 427). Entzündliches Granulationsgewebe weist eine erhöhte Produktion von Mucopolysacchariden auf (BENSLEY und eigene Ergebnisse S. 439) und bietet damit dem Siliciumdioxyd vermehrt derartiges Substrat an. Da nur die neugebildeten, jungen Mucopolysaccharide wasserlöslich sind (CATCHPOLE), kommt vielleicht gerade ihnen besondere Bedeutung zu.

Die Grundsubstanz enthält physiologischerweise Mucopolysaccharide und Proteine in noch ungeklärter Assoziation. Mit beiden Komponenten vermag Siliciumdioxyd zu reagieren: Der Viscositätsanstieg der präparativ dargestellten Mucopolysaccharide nach Zusatz von Siliciumdioxyd ist um so geringer, je intensiver die Eiweißbeimengungen entfernt wurden. Dies spricht für einen Reaktionsanteil dieser Eiweißkomponenten. Da jedoch auch eiweißfreie Mucopolysaccharidlösungen noch eine Viscositätssteigerung zeigen, muß auch ihnen direkte Reaktionsfähigkeit zugesprochen werden.

HOLZAPFEL konnte nachweisen, daß sterisch freie OH-Gruppen der Galaktose die Bindung zwischen Siliciumdioxyd und Mucopolysacchariden vermitteln:



(Da die Untersuchungen jedoch an Quarzkristallen, Quarzsuspensionen und sog. Quarzkieselsäure erfolgten, ist die Mitwirkung bestimmter Gitterkräfte und gerichteter Oberflächenkräfte am Zustandekommen der Reaktion nicht auszuschließen. Solche Kräfte fehlen aber dem amorphen, kolloidalen Siliciumdioxyd.)

Durch die Reaktion des Siliciumdioxys mit der Grundsubstanz wird deren Viscosität erhöht und Permeabilität vermindert (s. S. 427), ein Teil freier Ladungen blockiert und das Silicium teilweise fixiert. HOLT und OSBORNE sowie HOLZAPFEL fanden nach Einwirkung von Silicium auf Häute an diesen eine verminderte Permeabilität, z. B. für Hexosen. Die Bindung Silicium-Grundsubstanz ist nach Annahme genannter Autoren weitgehend fermentresistent. In eigenen Untersuchungen konnte ein Hemmungseinfluß des Siliciumdioxys auf *Kinetin* (Hyaluronidase Schering) festgestellt werden (S. 424). Jener Anteil der Gesamtviscosität, der durch die Reaktion der Eiweißkomponente zustande kommt, ist naturgemäß hyaluronidaseresistent.

Ob das Siliciumdioxyd mit *Faserkollagen* zu reagieren vermag, wurde nicht in vitro untersucht. Die histologischen Ergebnisse lassen dies jedoch als sehr wahrscheinlich erscheinen (s. S. 439 und SIEGMUND, ferner Abschnitt „Faserbildung“, S. 451).

Auf seinem weiteren Diffusionsweg begegnet das Siliciumdioxyd (so weit es noch nicht in Reaktion getreten ist) u. a. den *Serumeiweißkörpern*, die den peripheren, erhöht permeablen Gefäßen entstammen (SIEGMUND, KOPPENHÖFER)<sup>1</sup>.

Die Reaktion zwischen diesen Eiweißkörpern und dem Silicium verläuft unter Viscositätssteigerung und Dispersionsverminderung der Partner, im Extremfall bis zur Fällung oder zur Bildung kleinster, kugeliger Geltröpfchen. Die Entstehung derartiger, sehr grober Reaktionsprodukte, an denen sich außer den Eiweißkörpern in vivo noch andere Stoffe beteiligen dürften, äußert sich auch histologisch: Die bisher lichtoptisch nicht nachweisbaren Siliciumpartikel werden als stark lichtbrechende Punkte sichtbar<sup>2</sup> (s. S. 435 und Abb. 14). Da nur unter optimalen Bedingungen eine solche Aggregatbildung quantitativ verläuft (S. 422), ist auch im Bereich derartiger gröbdisperser „Glanzpartikel“ noch mit gleichzeitiger Anwesenheit feiner disperser, noch reaktionsfreudiger Partikel zu rechnen.

Aus der Reaktion resultiert eine verminderte Weiterdiffusion des Reaktionsproduktes. Embatische Effekte (BENNHOLD) ließen sich an den Eiweißanteilen des Reaktionskomplexes nicht nachweisen. Der Reaktionsbezirk weist für andere Stoffe verminderte Permeabilität auf

<sup>1</sup> Auf die enge Beziehung zwischen Entstehung silikotischer Granulome und Gefäßnähe wiesen CEELLEN, DI BIASI, GIESE und WÄTJEN hin.

<sup>2</sup> Die untere Sichtbarkeitsgrenze der Siliciumpartikel liegt nach KOPPENHÖFER etwa bei 0,25  $\mu$ .

(s. S. 428). Da für das Ausmaß dieser Folgen neben Elektrolytmilieu und  $p_H$  vor allem die Menge des Siliciums entscheidend ist (S. 422), endet mit dessen rapidem Konzentrationsabfall nach peripher auch der Einfluß auf Diffusionsvorgänge<sup>1</sup>.

Zu der beschriebenen Reaktion scheinen vor allem globulinartige Eiweißkörper geeignet zu sein, die im isoelektrischen Punkt oder nahe daran vorliegen (S. 421). Dies trifft innerhalb physiologischer  $p_H$ -Bereiche für das  $\gamma$ -Globulin zu (IEP 6,4). Bei  $p_H$  6,4 läßt es sich durch Siliciumdioxid selektiv als feinstrukturiertes Gelprodukt ausfällen (S. 421 und Abb. 3), dabei geht die elektrophoretische Wanderungsfähigkeit verloren. Die anderen Serumfraktionen weisen nicht diese ausgeprägten Reaktionseffekte auf, vor allem die Albumine erweisen sich als weitgehend stabil.

Die starke Reaktion der  $\gamma$ -Globuline ist wahrscheinlich eine Folge des hohen Gehaltes an freien OH-Gruppen, des ausgeprägten Dipolcharakters und der Neigung zu Haftpunktbildung (WUNDERLY und WUHRMANN).

Die Gewebssäuerung, die nach SCHADE die entzündlichen Vorgänge begleitet, begünstigt die Siliciumreaktion mit Eiweiß, indem sie sowohl einer Dispergierung und Stabilisierung des Siliciumsols entgegenwirkt als auch die  $p_H$ -Gewebssituation dem isoelektrischen Punkt der meisten Eiweißkörper näherbringt.

Die groben Eiweiß-Siliciumreaktionsprodukte erweisen sich histologisch als weitgehend unbeweglich. Lediglich ihre feindispers verbliebenen Siliciumanteile dürften, in minimaler Konzentration, weiter in die Peripherie gelangen. Das dortige intercelluläre Milieu wird zunächst weitgehend durch präformierte Strukturen und das Exsudat bestimmt.

Zusammenfassend lassen sich, je nach Konzentration und Eigenart des Siliciumdioxids und sonstiger Intercellulärsubstanzen, drei wesensverschiedene Wirkungszonen unterscheiden:

a) Die zentrale Zone hoher Konzentration an kolloid-dispersem, sehr aktionsfähigem Siliciumdioxid (= zentrale, toxische Reaktionszone).

b) Die Zone visköser, vermindert disperser Reaktionsprodukte, in denen das Silizium seine akute Wirksamkeit (vorübergehend?) eingebüßt hat (= nichttoxische Zone gehemmter Diffusion, Phagocytosezone).

c) Die periphere Zone reinen *Extravasates* und kleinemolekularer Reaktionsprodukte, mit Beimengung minimaler Siliciummengen feinerer Dispersion (=periphere Zellproliferationszone).

Diese unterschiedlichen Verhältnisse mit naturgemäß fließenden Übergängen sind für die topographischen Verschiedenheiten cellulärer Reaktion verantwortlich.

<sup>1</sup> Der Konzentrationsabfall ist zunächst eine Funktion der Entfernung vom Applikationsort (mit  $1/r^3$ ), doch dann, mit Zunahme der Teilchengröße, noch erheblich steiler.

*Celluläre Frühreaktionen.*

In nächster Umgebung des Applikationsortes (*Zone a*) Einwirkung des konzentrierten kolloid-dispersen Siliciumdioxys auf Leukocyten und Histiocyten. Durch adsorptive und direkte Reaktion mit Membranstrukturen Beeinflussung der selektiven Permeabilität.

Ein Permeieren des Siliciumdioxys, zumindest seiner feineren Fraktionen, ist anzunehmen. Intracelluläre Reaktion führt durch Fällungen, Diffusionshemmung und Viscositätserhöhung eine Stoffaustauschstörung herbei. Über die Bedeutung intracellulärer Viscosität für die Funktion von Leukocyten s. LEWIS. Die Einwirkung des Siliciumdioxys auf Fermente konnte mehrfach nachgewiesen werden. Sie findet gesonderte Darstellung (S. 450).

Die Summation aller Einflüsse des konzentrierten, reaktionsfreudigen Siliciumdioxys auf die zentral vorhandenen Zellen ist mit deren Vitalität nicht zu vereinbaren: Sie gehen nach Pyknose und Rhexis zugrunde (s. auch v. ALBERTINI, KING, KOCH). Dabei werden die intracellulären siliciumhaltigen Reaktionsprodukte und katheptische Fermente (WILLSTÄTTER) frei. Ob letztere auf die Silicium-Eiweißverbindungen einzuwirken vermögen, konnte nicht festgestellt werden.

Kathepsin greift bevorzugt Proteine an, die im isoelektrischen Punkt vorliegen. Dies trifft ursprünglich für einen Teil der Eiweißkomponenten zu, doch ist bei der Reaktion mit Siliciumdioxid mit weitgehender Veränderung ihrer Ladungsverhältnisse zu rechnen (S. 423), so daß ihre Eignung für Kathepsineinwirkung fraglich erscheint. Käme diese zustande, so würde durch Herauslösen der Eiweißkomponente die Viscosität des Reaktionsproduktes absinken und das Silicium gegebenenfalls einer Peptisation zugänglich werden. SCHUMACHER sieht die Bedeutung der freiwerdenden Zellproteasen darin, daß sie die Eiweißkörper von Exsudaten hydrolysieren, bevor die Reaktion mit Silicium erfolgen konnte. Die Spaltprodukte, die Aminosäuren, besitzen keine wesentliche Affinität zu Silicium, mit Ausnahme des Glykokolls (HOLZAPFEL).

Die Aminosäuren haben aber eine Bedeutung für die lokale Produktion von Eiweißkörpern im Granulationsgewebe, da diese ein primäres Angebot von Aminosäuren voraussetzt (CHRISTENSEN, STREICHER). Besonders präformierte Peptide bilden energetisch günstige Ausgangspositionen für Eiweißsynthesen (LANG). Die Diffusion dieser kleineren Moleküle in die Peripherie, in den Bereich des entstehenden Granulationsgewebes, dürfte ungehindert möglich sein.

Die *Zone b* ist durch die intercelluläre Reaktion des Siliciumdioxys mit Exsudat-Eiweißkörpern charakterisiert. Daneben sind noch Reaktionsprodukte vorhanden, die dem (hier weniger ausgeprägten) Zelluntergang entstammen. Zellen, die in diesem Gebiet zur Aufnahme der sehr grobdispersen, glänzenden Reaktionsprodukte schreiten, nehmen den gleichen stark lichtbrechenden Charakter an (S. 435 und Abb. 14). Sie werden durch die Aufnahme offenbar nicht *akut* geschädigt und sind weiterhin nach Ablösung und Abrundung als „Glanzzellen“ nachweisbar (Abb. 15).

Zellen genau gleichen Aussehens beobachteten SIEGMUND und KOPPENHÖFER nach i.v. Injektion von Siliquid (kolloidales Siliciumdioxid). Sie beschrieben starke Lichtbrechung des feinvwabigen Protoplasmas. KOPPENHÖFER stellte Siliciumpartikel im sog. Leuchtbild selektiv dar.

Da das Glanzphänomen außerhalb des Siliciumreaktionsgebietes sowie bei Kontrollinjektionen mit anderen Stoffen (Dondren, Krotonöl) nie beobachtet wurde, es auch im Modellversuch durch Mischung von Siliciumdioxid und Serum ( $p_H$  6,5) darzustellen ist, erscheint es berechtigt, die inter- und intracellulären Glanzpartikel als Reaktionsprodukte des Siliciumdioxids anzusehen. Ob *in vivo* eine einmalige Reaktion des Siliciums mit Eiweiß genügt, um das Phänomen zu bieten, ist nicht zu entscheiden. Die Tatsache, daß die Glanzpartikel erst nach 3—5 Tagen deutlich und zahlreich sichtbar werden, spricht für eine vorangegangene mehrstufige Umformung des Reaktionsproduktes. Diese kann entweder intracellulär während mehrfacher Zellpassage erfolgen oder extracellulär unter dem Einfluß optimaler Reaktionsbedingungen (progressive Säuerung, Eiweißangebot, vor allem  $\gamma$ -Globuline). Die Tatsache, daß die reticulären Zellelemente zur Produktion von  $\gamma$ -Globulin befähigt sind, ist vielleicht in diesem Zusammenhang von Bedeutung (BJORNEBOE und GORMSEN, EHRICH, DRABKIN, FORMAN, FAGRAEUS, MEYER-ARENDE, zit. bei SCHALLOCK).

Die Glanzpartikel färben sich eosinrot, PAS-positiv, Pyronin-rot und van Gieson-gelbgrau an.

#### *Das Granulationsgewebe.*

Zur Peripherie hin (*Zone c*) werden die beschriebenen Bilder immer seltener. Es überwiegen Proliferationen mesenchymaler Zellelemente, die alle Übergangsformen von der indifferenten Mesenchymzelle zum Fibrocyten zeigen.

Die Auffassung, daß diese Zellelemente keine echten Differenzierungsprodukte, sondern Durchgangsstadien formaler und funktioneller Art darstellen (SCHALLOCK, CHARPY und STAHL), findet weitgehende Bekräftigung. Die Formumwandlungen vollziehen sich am vielseitigsten zu Zeiten, in denen Mitosen kaum noch anzutreffen sind. Es hat den Anschein, als ob die Formung der Zellen in gewissen Grenzen durch extracelluläre Kräfte erfolgt und intracelluläre Vorgänge dazu lediglich die Voraussetzung leichter Deformierbarkeit schaffen (Volumenvergrößerung mit Verminderung der Oberflächenspannung u. a. m.). Da bei einer Deformierung runder und ovoider Zellen eine Vergrößerung ihrer Oberfläche erfolgt, verändern sich gleichzeitig Dichte und Permeabilität der Zellmembran.

Der Vorgang der Zelltransformation vollzieht sich nur innerhalb des peripheren Gefäßgürtels in der abgebildeten Weise (Abb. 13). Jenseits der Gefäße überwiegen, fast einheitlich, ovoid, plasmocytoide Zellen, vor allem vom 4.—5. Tage an.

Das Granulationsgewebe durchdringt allmählich auch das zentrale zellarme Gebiet der Glanzpartikel (Abb. 14). Von der allgemeinen

Zelltransformierung bleiben die Glanzzellen unberührt. Sie zeigen sich noch nach 18 Tagen unverändert, teils locker, teils zwischen Fasern und Fibrocyten eingepreßt (Abb. 21).

Über Faser- und Hyalinentstehung s. unten.

Die Frage, ob dem Siliciumdioxyd eine *spezifische Bedeutung* für die Granulationsgewebsbildung zukommt, ist schwer zu beantworten.

Schon im Bereich eiweißreicher Extravasate kann es zur Faserbildung (RÖSSLE) und Zellaktivierung kommen (SIEGMUND, SCHALLOCK). Die Entstehung solcher Exsudate ist Folge gesteigerter Gefäßpermeabilität, wie sie Gebieten eigentümlich ist, in denen Zellerfall stattfindet. Dieser läßt Stoffe freiwerden, die teils vasoaktiv sind (LEWIS, MENKIN, BIER und SILVA), teils die Faserbildung begünstigen (JENEY und TÖRÖ). Exsudate haben direkte Bedeutung für Zellvitalität und Struktur-erhaltung (RÖSSLE, TERBRÜGGEN). Sie verschlechtern die Sauerstoffversorgung. Ebenso führt die reaktive Zellvermehrung durch erhöhten  $O_2$ -Verbrauch zu Hypoxydose (BÜCHNER, LINZBACH, SCHADE, SCHALLOCK). Diese soll nach BÜCHNER die Faserbildung, nach SCHALLOCK die Fibroblastenentstehung begünstigen und aerobe Glykolyse auslösen (LANG u. a.). Letztere verschiebt das Gewebs- $p_H$  und ruft einen Funktionswandel der Proteasen mit Bevorzugung proteolytischer Prozesse hervor (JOHNSTON, MYCEK, FRUTON).

Siliciumdioxyd löst Zelluntergang aus, Permeabilitätssteigerung und Exsudatbildung. Es stört die Eukolloidalität (SCHADE, KOPPENHÖFER), stimuliert Zellproliferationen<sup>1</sup> und begünstigt durch seine viscösen Reaktionsprodukte Hypoxydose und Säuerung. Letztere steigert die Reaktionseffekte des Siliciums im Sinne eines Circulus vitiosus. Anreicherung von  $CO_2$  wirkt im gleichen Sinne.

Die meisten dieser früher Wirkungen scheinen unspezifischer Natur zu sein. Den *spezifischen* Einfluß auf die Granulationsgewebsbildung entfaltet das Siliciumdioxyd wahrscheinlich nur bei einer ganz bestimmten feinkolloidalen Teilchengröße und einer geringen Konzentration, die schon nicht mehr die Zellvitalität zu beeinträchtigen, aber wohl Fermentsysteme zu beeinflussen vermag.

*Fermente* reagieren je nach Eigenart in unterschiedlicher Weise auf Wirkstoffe<sup>2</sup>. Es kommt deshalb auch unter der milden Siliciumdioxyeinwirkung nicht zu genereller Dämpfung, sondern zur Abänderung fermentativer Reaktionen und Modifizierung des Stoffwechsels, ohne daß sich diese zur Zeit schon präzisieren ließe.

Siliciumdioxydzusatz zu Gewebshomogenaten führt zunächst zu Depression dann zu Steigerung des Gewebsatmung (Abb. 6). Ob letzteres als Stimulierung

<sup>1</sup> Eine Speicherung von Stoffen, also wahrscheinlich auch die Aufnahme des Siliciums und seiner Reaktionsprodukte, ist immer von gleichzeitiger Proliferation mesenchymaler Zellen begleitet (METSCHNIKOFF, MALLORY, ASCHOFF, SIEGMUND, BAILLIE, SCHALLOCK — zit. bei SCHALLOCK).

<sup>2</sup> Die Beeinflussung von Hemmungskörpern oder von Fermenten selbst, Bildung oder Zerstörung fermentativ wirksamer Strukturen, Dispersionswandlungen, komplexe Adsorptionen u. a. m. sind die Angriffspunkte von Einflüssen auf Fermentfunktionen. Daraus ergibt sich die Möglichkeit zahlreicher Wirkungsmechanismen.



physiologischer Stoffwechselvorgänge oder als Ausdruck beschleunigter Autolyse zu gelten hat oder durch verlangsamte Substratverarmung zu erklären ist, sei dahingestellt. Glucosezusätze zögern den Umschlagpunkt hinaus (Abb. 6). — Bei diesen Versuchen erweisen sich grobdisperse Siliciumdioxidfractionen weniger wirksam als die feinkolloiddispersen Anteile (Abb. 7). — Mitochondrien, mit Fumarsäure als Substrat, reagieren auf Siliciumdioxidzusatz mit starker Verminderung der Atmung. Diese beträgt bis zu 40% (bei 0,5—0,7%igen Siliciumzusätzen). Bei der hohen Bedeutung der Mitochondrien für die biologische Oxydation ist diesem Befund besondere Wichtigkeit beizumessen<sup>1</sup>. Die beobachteten Abweichungen der Atmung unter Siliciumzusatz zeigen deutliche Abhängigkeit von der Einwirkungszeit und dem Vitalitätszustand des Gewebes.

Alkalische Phosphatase scheint aktiviert, saure gehemmt oder an ihrer Bildung behindert zu sein (S. 437 und Abb. 18; s. auch MARZANI, HELFERICH und SCHMITZ). Einschränkung s. S. 438.

Die Darstellung der Warburg-Keilin-Atmungskette (*Nadi-Reaktion*) zeigt lediglich im Zentrum verminderte, sonst überall gleichmäßige Intensität. Im gleichen Zentralbereich findet sich auch ein diffuses, intercelluläres Vorkommen von Sulfhydrylgruppen, die im übrigen Gewebe auf die Zellen beschränkt sind.

Fermentwirkungen sind zum Teil eng mit energetischen Vorgängen gekoppelt, vor allem von der Sauerstoffspannung abhängig (LANG). Unter der Einwirkung des Siliciumdioxids ist die Sauerstoffbilanz des Gewebes durch das Zusammenwirken mehrerer Vorgänge verschlechtert: Durchblutungsstörungen funktioneller und organischer Art, Diffusionsstörungen im Gebiet viscöser Reaktionsprodukte, vermehrter Sauerstoffverbrauch durch die im Siliciumwirkungsbereich einsetzende Zellvermehrung. Die Reaktion der Mitochondrien auf den Siliciumzusatz ist als Sauerstoffverwertungsstörung aufzufassen, mit gleichen Folgen wie primärer Sauerstoffmangel. HOLZAPFEL nimmt noch eine unmittelbare Bindung des Sauerstoffs an Silicium an, wodurch er anderen Stoffwechselvorgängen entzogen würde.

Eine Ferment- und Stoffwechselentgleisung hat je nach augenblicklicher Stoffwechsellaage unterschiedliche Bedeutung. Es ist denkbar, daß Silicium gerade jene Stoffwechselkonstellation herbeiführt oder begünstigt, die zu Faserbildung und Hyalinentstehung beiträgt.

Die Faserbildung wird heute als der extracelluläre Übergang eines Kollagensols (Präkollagen, NAGEOTTE — Prokollagen, OREKHOVITCH) in ein Gel verstanden. Mucoproteine des Serums (HIGHBERGER, GROSS, SCHMITT), Chondroitinsulfat (FAURÉ-FREMIET), Heparin (MORRIONE) sowie  $pH$ -Verschiebungen zum Sauern hin (VANAMEE und PORTER) werden für die Auslösung dieses Vorganges verantwortlich gemacht.

Würde Siliciumdioxid in ähnlicher Weise wirken, was bei der Lage des isoelektrischen Punktes des Kollagens (6,6—6,8 BOWES, KENTEN) und der Labilität gelösten Kollagens denkbar wäre, so würde das Silicium wahrscheinlich auch im Endprodukt, in der Faser, vorliegen, was nie beobachtet wurde. Im vorliegenden Fall ist die Bedeutung des Siliciumdioxids vielmehr in der Schaffung der Voraussetzungen zur Faserbildung zu sehen, wie sie schon genannt wurden.

<sup>1</sup> SCHLIPKÖTER fand elektronenmikroskopisch in den Zellen des silikotischen Granulationsgewebes eine Deformierung der Mitochondrien. Über die Bedeutung der Mitochondrien für den Zellstoffwechsel s. LANG.

Untersuchung des Reaktionszentrums auf Aminosäuren mit Hilfe der Fadenmethode (S. 431) und der Papierchromatographie (S. 443) ergab keinen sicheren Anhalt dafür, daß dort Eiweißkörper vorhanden oder in Entstehung begriffen sind, die der typischen Zusammensetzung des Kollagens bzw. Prokollagens entsprechen (S. 443). Die Prolin- und Oxyprolinwerte liegen erheblich niedriger, was natürlich auch durch unspezifische Verdünnungen erklärt sein kann (s. Tabelle 1).

Der Nachweis von Acetyl-Glucosamin (Komponente der Mucopolysaccharide) gelingt chromatographisch zu dem Zeitpunkt, in dem auch die Faserbildung im Reaktionszentrum nachweisbar wird. Dies spricht, ebenso wie die genannten *in vitro*-Versuche der amerikanischen Autoren, für die Bedeutung neuproduzierter Mucopolysaccharide im Faserbildungsprozeß (s. SCHALLOCK).

In histologischen Ergebnissen fällt die Abhängigkeit der *Faserrichtung* von mechanischen Kräften auf. Die Fadenversuchsreihe führt zur Bildung ringförmiger, konzentrischer Faserstrukturen (Abb. 16). Der Vorgang stellt sich als Verdichtung und Ausrichtung von ursprünglich regellos auftretenden, feinsten Fäserchen dar. Abhängigkeit von Zellausläufern fand sich nicht, eher eine Orientierung von Fasern und Zellen nach übergeordneten Kräften. Eine lokale und zeitliche Übereinstimmung von Fibroblastenanwesenheit und Faserbildung war nicht nachweisbar. — HUZELLA nimmt an, daß gespannte Fasern den angelagerten Zellen die spindelige Form erteilen. Bei Entspannung der Fasern soll es zur Ablösung und Abrundung der Zellen kommen. Die Richtigkeit dieser Vorstellung kann bestätigt werden: Bei gleichalten Fadengranulomen (S. 431) wurden einerseits die Fäden *vor*, andererseits erst *nach* einer Anfixierung des Gewebes herausgezogen. Im ersten Fall, wo es zur Entspannung der ringförmigen Fasersysteme gekommen war, zeigen sich die Wandungszellen des Fadenkanals als groß, plump, keulenförmig und polyedrisch, im zweiten Fall, wo die Spannung des Fasersystems erhalten war, fibrocytenähnlich.

Für die *Hyalinentstehung* ist dem Siliciumdioxid neben der oben erwähnten unspezifischen auch eine *spezifische Bedeutung* beizumessen. Hyalin wird als das gelbildende Fällungsprodukt von sauren Mucopolysacchariden und neutralen bzw. basischen Eiweißkörpern globulinartigen Charakters (SCHAUENSTEIN und RATZENHOFER) angesehen (ALTSCHULER und ANGEVINE), in dem noch kollagene Elemente (SCHAUENSTEIN und RATZENHOFER) und Fibrin (EHRICH) eingelagert sein können.

[Die Mucopolysaccharide entstammen einer Neuproduktion, die im Raum subakuter und chronischer Reizzustände durch die dort einsetzende Glykolyse angeregt wird (ALTSCHULER und ANGEVINE). Die Eiweißkörper sind Bestandteile von Exsudaten oder Produkte nekrobiotischer Gewebsalteration.]

Siliciumdioxid schafft diese Voraussetzungen. Die Bildung der Mucopolysaccharide konnte histochemisch und chromatographisch nachgewiesen werden (S. 443). Auch das Vorhandensein der neutralen oder basischen Eiweißkörper erscheint chromatographisch gesichert: Es läßt sich in zunehmendem Maße Arginin und Lysin im Reaktionsgebiet nachweisen.

Eine aktive Beteiligung des Siliciumdioxids an dem Fällungs- und Gelbildungsvorgang ist auf Grund vorliegender *in vitro*-Ergebnisse wahrscheinlich (S. 426). Auch histologische Ergebnisse und Modellversuche sprechen dafür.

SCHAUENSTEIN und RATZENHOFER rechnen mit dem Niederschlag der Fällungsanteile an präformierten Strukturen. Als solche müssen auch, im submikroskopischen Bereich, die Siliciumgel- und Fällungsprodukte gelten. Ihre grobstrukturelle dreidimensionale Vernetzung konnte nachgewiesen werden (SIGNER und EGLI). Siliciumdioxid vermindeter Dispersion vermag also das primäre Gerüst für die Präzipitation der Hyalinanteile zu stellen. Seine adsorptiven Fähigkeiten unterstützen gegebenenfalls den Vorgang.

Ein derartig strukturiertes, gelartiges Reaktionsprodukt vermag zunächst erhebliche Mengen von Flüssigkeiten in seinen Maschen aufzunehmen. Bei der Eigenart der Zusammensetzung besteht jedoch die Tendenz zum Übergang des Lyogels in die Xeroform: Die Eiweißkörper, die nach den *in vitro*-Untersuchungen bevorzugt mit Silicium reagieren, haben nur geringe Quellungsneigung und selbst diese geht bei der Fällung weitgehend verloren. Auch die Siliciumkomponente vermag durch Synärese allmählich aktiv Flüssigkeit abzustößen. Sauerstoffmangel kann hier noch fördernd eingreifen: Er begünstigt die Dehydratation der organischen Siliciumverbindungen (HOLZAPFEL) und ihre Verfestigung, die ihn begleitende Glykolyse und Säuerung führt zu weiterer Polymerisierung des Siliciumdioxids (JÄGER) nebst Viscositätssteigerung. Die Folge dieser Vorgänge ist Verfestigung, Schrumpfung und Permeabilitätsverlust. Mit nachlassender Quellbarkeit vermindert sich die Möglichkeit einer Peptisation des Reaktionsproduktes, der Vorgang ist irreversibel geworden.

Verfestigung und Permeabilitätsverlust sind für den Zellschwund im Hyalin verantwortlich zu machen.

#### *Die Abhängigkeit der Siliciumdioxidwirkung von Zusätzen.*

Für die *in vitro*-Wirkungen des Siliciumdioxids müssen 3 Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Die Siliciumdioxidlösung muß feinkolloidal oder polydispers sein und noch aktive, fällende Reaktionsfähigkeit besitzen. Diese nimmt bei Zunahme der Teilchengröße ab!

2. Es müssen geeignete Fällungs- und Reaktionspartner vorhanden sein.

3. Beide Reaktionspartner müssen in labilem, koagulationsbereitem Zustand vorliegen.

Punkt 1 und 2 wurden schon behandelt. Faktor 3 steht in engster Wechselbeziehung zu der Ladung der Kolloide und der Zusammensetzung und Stärke des Ionenmilieus (BURTONSche und SCHULTZ-HARDYSche Regeln). Einwertige Kationen wirken der Fällungstendenz entgegen. Tatsächlich vermindern Natriumionen

die *in vitro*-Fällungseffekte des Siliciumdioxys (S. 423), in Übereinstimmung mit der Erfahrung, daß Alkalisilicate nur geringe biologische Wirksamkeit besitzen.

Den umgekehrten, fällungsfördernden Effekt haben die *mehrwertigen Kationen*. In überschwelliger Konzentration vermögen sie die Reaktionspartner unabhängig voneinander zu fällen. In unterschwelliger Konzentration dagegen begünstigen sie die oben beschriebene Reaktion zwischen Siliciumdioxid und Serumeiweißkörpern, indem sie die Forderung 3 erfüllen helfen (s. S. 424, ferner K. G. SCHMIDT).

Schutzkolloide und Peptisatoren vermögen die Silicium-Eiweißreaktion weitgehend zu beeinflussen.

Ein Zusatz von *Kollidon* (Polyvinylpyrrolidon BASF, s. REPPE) zum Siliciumdioxid verhindert *in vitro* die Fällungswirkung des letzteren, soweit man dies viscosimetrisch erfassen kann. Die *in vitro*-Kontrolle ist überraschend: Es finden sich keine Nekrosen oder nekrobiotische Bezirke — kaum Degenerationszellformen. Intercelluläre Fällungen sind nicht ausgeprägt. Hyalin nicht nachweisbar. In Übereinstimmung damit fehlen die basischen Eiweißkomponenten im Reaktionsbereich. Die allseitige Ausdehnung des Reaktionsgebietes ist um ein Mehrfaches kleiner als bei Siliciumdioxidinjektion allein, nicht umschrieben, sondern zwischen präformierten Gewebsschichten flach ausgebreitet. Dies alles entspricht weitgehend der Erwartung. Im Gegensatz dazu steht die räumlich zwar nur geringe, aber qualitativ stark ausgeprägte und in kurzer Frist auftretende Faserbildung. Schon nach 2 Tagen liegt dichtes, zellreiches Fasergewebe vor (Abb. 19, 20). — Kollidon schaltet offenbar die toxische, fällende Komponente des Siliciums aus und verhindert Zelluntergang. Vielleicht kann unter dem Schutz des Kollidons das Silicium seine Fermentwirkung ungestört auch in höherer Konzentration entfalten, da die Zellvitalität unbeeinträchtigt bleibt. Die Zellteilungsvorgänge werden durch das Kollidon erheblich beschleunigt (PETERS und BURGER). Damit wird einer Hypoxydase Vorschub geleistet, die eventuell durch den Mangel an vasoaktiven Stoffen (keine Nekrosen!) verstärkt wird. — Embatischer Effekt (SCHUBERT) und reduzierende Wirkung des Kollidons sind in ihrer Bedeutung in diesem Zusammenhang noch nicht faßbar. Eine befriedigende Erklärung für den Gesamtvorgang steht leider noch aus. Man darf aber eine Tatsache herausstellen: Die faserbildenden Vorgänge sind (zumindest in diesem Falle) nicht an das Vorhandensein von Nekrosen gebunden.

Die weniger eindrucksvollen Ergebnisse der Verwendung anderer Zusätze (*Glucose*, *Hyaluronsäure*, *Heparin*, *Ascorbinsäure*) sind im Teil II nachzulesen.

#### *Silicium, Alterungserscheinungen der Grundsubstanz und Sauerstoff.*

Ein Versuch, die *in vitro*- und *in vivo*-Ergebnisse unter Außerachtlassung ätiologischer Faktoren in einen größeren Rahmen pathologischer Erscheinungen einzuordnen, zwingt zum Vergleich der physiko-chemischen Folgen der Siliciumwirkung mit den Alterungserscheinungen der Grundsubstanz. Hier wie dort kommt es zu

Dispersionsverminderung intercellulärer Systeme, die den Verlust biologisch obligater Grundsubstanzfunktionen nach sich zieht [z. B. spezifische Permeabilität, Orthoviscosität, Ionenaustausch,  $p_H$ -Stabilisierung, Wasserbindung, Adsorption u. a. m. (s. BÖHMIG und KLEIN, DURAN-REYNALS, FAVILLI, GIBIAN, SCHALLOCK, SIEGMUND)].

Ist das Altern der Intercellulärsubstanz an sich schon eine Eigentümlichkeit kolloider Systeme, die *in vivo* durch dauernde funktionelle Belastung bei ungenügender Erneuerung (LINZBACH) begünstigt wird, so wird dieser Vorgang durch das Siliciumdioxid aktiv und in kürzester Zeit herbeigeführt und abgeschlossen, wie oben dargestellt wurde.

Durch die Verdichtung der Intercellulärsubstanz und ihre meist irreversiblen Funktionsverluste kommt unabhängig von der Ätiologie und zusätzlich zu deren Wirkungen der permanente, alterungsfördernde Einfluß auf die Zellen selbst zustande.

Ein wichtiger Teilfaktor dieser Vorgänge scheint der Sauerstoffmangel zu sein. Ob er über die Steigerung der Gefäßpermeabilität (BÜCHNER, LANDIS) wirksam wird oder über die unter seinem Einfluß entstehenden abartigen Reaktionsprodukte und  $p_H$ -Verschiebungen, sei dahingestellt, seine Bedeutung ist nicht zu verkennen. HUEPER stellte Alterung und Sauerstoffmangel bei seiner Betrachtung über Gefäßsklerosen nebeneinander und in letzter Zeit wiesen BÜCHNER sowie SCHALLOCK wiederholt auf die Rolle des Sauerstoffmangels für Bindegewebsveränderungen hin.

Siliciumdioxid führt nicht nur die erwähnten unmittelbaren Veränderungen kolloidaler, intercellulärer Systeme herbei, sondern verschlechtert auch auf mehrfache Weise die  $O_2$ -Bilanz des Gewebes.

Leider kann man in biologischen Prozessen keine echte Trennung von Wirkungsfaktoren vornehmen, dies widerspräche der gegebenen Korrelation und überstiege methodische Möglichkeiten, es spricht jedoch manches dafür, daß die beschriebenen Wirkungsweisen des benutzten Siliciumdioxids ein allgemeines Kausalprinzip der Bindegewebsentstehung beleuchten.

### Zusammenfassung.

Kolloidale Siliciumdioxidlösung (SD) wurde *in vitro* auf ihre Reaktionsfähigkeit mit Serumeiweiß (EK), Grundsubstanz, Fermenten und Gewebshomogenaten untersucht und ihre Wirksamkeit zugleich *in vivo* histologisch und histochemisch verfolgt.

SD bildet unterhalb des Neutralpunktes mit EK grobdisperse, visköse Fällungs- und Gelprodukte. Diese diffundieren schwer und erschweren auch das Diffundieren anderer Stoffe. Im Reaktionsprodukt haben die Partner ihre Eigenschaften weitgehend verändert.

Das Ausmaß der Reaktionen ist von Konzentration und Mengenverhältnis der Reaktionspartner, von deren Eigenart und vom  $p_H$  abhängig. Für  $\gamma$ -Globulin verläuft die Reaktion im isoelektrischen Punkt (6,4) optimal. Die Reaktionsbedingungen werden beschrieben.

Höchste Wirksamkeit entfaltet das SD in feinkolloidaler Verteilung. Dispersionsverminderung hebt die Fällungsaktivität des SD weitgehend auf. Auch jede Reaktion mit EK hat die gleichen Folgen.

SD zeigt ähnliche, viscositätserhöhende Reaktion auch mit den Mucopolysaccharid-Proteinassoziaten der Grundsubstanz.

SD übt nachhaltigen Einfluß auf fermentative Vorgänge aus. Zusatz zu Gewebshomogenaten bzw. zu isolierten Mitochondrien vermindert deren Atmung. Je nach Vitalitätszustand des Gewebes unterschiedliche Reaktion.

Polyvinylpyrrolidon sowie Natriumionen vermögen das Ausmaß der bisher beschriebenen Reaktionen weitgehend zu mindern, mehrwertige Kationen in minimaler Konzentration steigern es. Auch  $\text{CO}_2$  begünstigt die Reaktionen, ebenso anderweitige Säuerung.

Die histologischen und histochemischen Ergebnisse der *in vivo*-Versuche lassen sich mit den *in vitro*-Ergebnissen zum Teil gut in Einklang bringen. Sie machen die Existenz verschiedener SD-Zustandsformen mit jeweils unterschiedlicher biologischer Bedeutung wahrscheinlich. — Der Ablauf der Gewebsreaktion wird ausführlich beschrieben und mit Hilfe der *in vitro*-Erkenntnisse gedeutet.

Chromatographische Untersuchungen über die stoffliche Zusammensetzung des Reaktionsgebietes vermitteln in Verbindung mit histochemischen Methoden Vorstellungen über die Art der dort entstehenden Reaktionsprodukte.

Die Bedeutung des SD für Hyalin- und Faserbildung wird beschrieben.

Die *in vivo*-Wirkungsweise des benutzten SD ist komplexer Natur. Fällungen von EK, Bildung von Gelkörpern, Beeinflussung von Fermentvorgängen, Adsorptionsphänomene und die Schaffung verschlechterter Sauerstoffbilanz sind bisher als Wirkungsfaktoren erkennbar.

### Literatur.

- ALBERTINI, A. v.: Zur Pathogenese der Silikose. Zangger-Festschrift, S. 237, Zürich 1934. — ALTSHULER, CH. H., and D. M. ANGEVINE: Acid Mucopolysaccharides in degenerative diseases of connective tissues. Amer. J. Path. **27**, 141 (1951). — Histochemical studies on the pathogenesis of Fibrinoid. Amer. J. Path. **25**, 1061 (1949). — BEGER, J.: Über die Asbestosiskörperchen. Virchows Arch. **290**, 280 (1933). — Mineralogische und chemische Beiträge zur Frage beruflich erworbener Lungenfibrosen. Verh. dtsh. path. Ges. **1949**. — BENNHOLD, H.: Der Einfluß von Serum auf die Diffusion saurer Farbstoffe. Kolloid-Z. **43**, 328 (1927). — BENSLEY, S.: Presence, properties and distribution of intercellular ground substance. Anat. Rec. **60**, 93 (1934). — BIASI, W. DI: Schwere Silikose. In Handbuch der gesamten Unfallheilkunde, Bd. 2, S. 123 (1933). — Zur pathologischen Anatomie der Silikose. Verh. dtsh. path. Ges. **1949**. — Pathologische Anatomie der Silikose. Beitr. Silikoseforsch. **1949**, H. 3. — BIER, O., u. ROCHA E SILVA: Untersuchungen über Entzündung. Virchows Arch. **303**, 324 (1939). — BLIX, G., and O. SNELLMAN: Molecular shape and size of Hyaluronic-Acid and Chondroitin-Sulfuric-Acid. Nature (Lond.) **153**, 587 (1944). — Ark. Kemi (Stockh.) **19a**, Nr 32 (1945). — BÖHMIG, R., u. P. KLEIN: Ätiologie und Pathogenese des acuten Rheumatismus nach dem heutigen Stand des Wissens. Medizinische **1953**, Nr 44/45. — BOWES, J. H.: Composition of Sein-Collagen and the effect of alkalis on Collagen. Research

- 4, 155 (1951). — BOWES, J. H., and R. H. KENTEN: The amino-acid composition and titration curve of Collagen. *Biochemic. J.* **43**, 358, 365 (1948). — The swelling of Collagen in alkaline solutions. *Biochemic. J.* **46**, 1, 524 (1950). — BROWN, B. L., F. C. KELLY and M. WATSON: Quantitative paper chromatography of amino-acids in Collagen. In RANDALL, Nature and structure of Collagen. London 1953. — BÜCHNER, F.: Die pathogenetische Bedeutung des allgemeinen Sauerstoffmangels. *Verh. dtsch. path. Ges.* **1944**. — CATCHPOLE, H. R.: Zit. bei FAVILLI. — CHARPY, J., et A. STAHL: *Ann. de Dermat.* **79**, 257 (1952). — CHEVREMENT, M., u. J. FRÉDÉRICQ: Zit. bei W. LIPP, *Histochemische Methoden*, Bd. IV. München: Oldenbourg 1954. — CHRISTENSEN, H. N., and J. A. STRETCHER: *J. of Biol. Chem.* **180**, 791 (1949). — CRAMER, F.: *Papierchromatographie*. Weinheim: Verlag Chemie 1954. — DOLJANSKI, L. u. FR. ROULET: Studien über die Entstehung der Bindegewebsfibrille. *Virchows Arch.* **291**, 260 (1933). — DURAN-REYNALS, F.: Alte und neue Erkenntnisse über die mesenchymale Grundsubstanz. *Medizinische* **1954**, 532. — EHRRICH, W. E.: Über das Wesen der Lipoidnephrose. *Zbl. Path.* **89**, 354 (1952/53). — FAURÉ-FRÉMIET, E.: Some properties of soluble collagen. *C. r. Soc. Biol. Paris* **113**, 715 (1933). — *Biochemic. J.* **56**, 558 (1954). — FAVILLI, G.: Probleme der Mucopolysaccharide des Bindegewebes. *Wien. klin. Wschr.* **1952**, 405. — GERSTEL, G.: Über die Veränderungen der Lungenblutgefäße bei Staublungenkranken. *Veröff. Gewerbe- u. Konstit. path.* **8**, H. 35 (1933). — GIBIAN, H.: Das Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System. *Erg. Enzymforsch.* **13**, 1 (1954). — GIESE, W.: Quarzstaub, Schwielenlunge und Lungentuberkulose. *Veröff. Gewerbe- u. Konstit. path.* **7**, 28 (1931). — Die schwierige Induration der Lungenlymphknoten. *Beitr. path. Anat.* **90**, 555 (1933). — Experimentelle Untersuchungen zur Staublungenfrage. *Beitr. path. Anat.* **94**, 442 (1935). — Silizium, Silikate, Silikose. *Klin. Wschr.* **1940**, 558. — GRASSMANN, W., u. J. TRUPKE: In *Physiologische Chemie (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ)*, Bd. 1. Berlin: Springer 1951. — GYE, W. E., and W. J. PURDY: The poisonous properties of colloidal silical. *Brit. J. Exper. Path.* **5**, 238 (1924). — HALDANE: Zit. bei L. HOLZAPFEL: *Beitr. Silikoseforsch.* **1952**, H. 15. — HELFERICH, B., u. E. SCHMITZ: Über den Einfluß von Quarzstaub und von Aluminiumphosphat auf einige Fermente. *Beitr. Silikoseforsch.* **1953**, H. 24. — HIGHBERGER, J. H., J. GROSS and F. O. SCHMITT: Interaction of Mucoprotein with soluble Collagen. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **37**, 286 (1951). — HOLT, P. F., and S. G. OSBORNE: *Brit. J. Industr. Med.* **10**, 152 (1953). — HOLZAPFEL, L.: Siliziumverbindungen in biologischen Systemen. *Z. Elektrochem.* **55**, 577 (1951). — Kritische Betrachtungen zur Chemischen Theorie der Silikose. *Beitr. Silikoseforsch.* **1952**, H. 15. — Chemische Reaktionsbedingungen von Quarzstaub im Organismus. In *Staublungenenerkrankungen*, Bd. 2, S. 130. 1954. — HOLZAPFEL, L., u. W. ENGEL: Einfluß organischer Kieselsäureverbindungen auf das Wachstum. *Z. Naturforsch.* **9b**, 602 (1954). — HUEPER, W. C.: Arteriosclerosis. *Arch. of Path.* **38**, 162 (1944); **39**, 117 (1945). — HUZELLA, TH.: Die zwischenzellige Organisation. Jena 1941. — JÄGER, R.: Kolloidchemische Gesichtspunkte in der Staublungenforschung. In *Staublungenenerkrankungen*. Darmstadt 1950. — Persönliche Mitteilung. — JEANLOZ, R. W., and E. FORCHIELLI: *J. of Biol. Chem.* **186**, 495 (1950). — JENEY, A. V., u. E. TÖRÖ: Die Wirkung der Ascorbinsäure auf die Faserbildung in Fibroblastenkulturen. *Virchows Arch.* **298**, 87 (1936). — JOHNSTON, R. B., M. J. MYCEK u. J. S. FRUTON: Zit. bei K. LANG. — JÖTTEN, K. W.: *Handbuch der gesamten Unfallheilkunde*, Bd. II. 1933. — Das Staublungenproblem. *Die Staublungenenerkrankungen*, Bd. 60. Darmstadt 1950. — JÖTTEN, K. W., u. H. GÄRTNER: *Dtsch. med. Wschr.* **1947**, 531. — KING, E. H.: Solubility theory of Silicosis. In *Staublungenenerkrankungen*, Bd. 60. Darmstadt 1950. — KING, E. H., H. STANTIAL and M. DOLAN: *Biochemic. J.* **27**, 1013 (1933). — KOCH, W.: Die Wirkung

verschiedener Kieselsäureformen. *Frankf. Z. Path.* **60**, 58 (1949). — KOPPENHÖFER, G. F.: Zur Pathogenese silikotischer Gewebsveränderungen. *Arch. Gewerbepath.* **6**, 18 (1935). — Asbestosiskörperchen. *Verh. dtsh. path. Ges.* **1935**. — Untersuchungen zur Pathogenese silikotischer Gewebsveränderungen. *Virchows Arch.* **297**, 271 (1936). — KÜNTZEL, A., u. K. DOENER: Das Lösungsverhalten und der Quellungszustand des Kaseins der Milch. *Kolloid-Beih.* **51**, 277 (1940). — KUHN, A.: *Kolloidchemisches Taschenbuch*, 4. Aufl. Leipzig 1953. — KUHN, W.: Zit. bei PHILIPPOFF. — LANDIS, E. M.: *Physiologic. Rev.* **14**, 404 (1934). — LANG, K.: Der intermediäre Stoffwechsel. Berlin: Springer 1952. — Mikroskopische und chemische Organisation der Zelle. 2. Kolloquium der Ges. Physiol. Chem. 1951. Berlin: Springer 1952. — LEWIS, TH.: *Heart* **11**, 209 (1924). — LEWIS, W. H.: *Arch. exper. Zellforsch.* **23**, 1 (1939). — LINZBACH, A. J.: Knorpelveränderungen und Arteriosklerose. *Virchows Arch.* **311**, 432 (1943). — MARZANI, P. C.: *Arch. Sci. Med.* **95**, 344 (1953). — MAXIMOW, A.: Über die Entwicklung argyrophiler und kollagener Fasern in Kulturen. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **17**, 625 (1929). — MENKIN, V.: *Newer Concepts of Inflammation*. Springfield, Ill. 1950. — MEYER, K. H.: *Makromolekulare Chemie*. Leipzig 1953. — MEYER, K., and E. SMYTH: *J. of Biol. Chem.* **119**, 507 (1937). — MORRIONE, Th.: Formation of Collagen-fibers. *Connective Tissues. Trans. of the 2nd Conference*, April 1950. Macy Foundation 1951. — MYLIUS, u. GROSCHUFF: Über  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kieselsäure. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **39**, 116 (1906). — NAGEOTTE, J.: Fibrillous coagulation in vitro of Collagen dissolved in dilute acid. *C. r. Acad. Sci. Paris* **184**, 115 (1927). — NEUMANN, K. H.: *Grundriß der Gefriertrocknung*, 2. Aufl. Göttingen 1954. — OREKHOVITCH, V. N.: Les procollagènes, leur structure, chimique et leur rôle biolog., *Internat. Congr. Biochem.*, Paris **2**, 106 (1952). — OSTWALD, Wo., u. W. STUART: Zit. bei PHILIPPOFF. PETERS, K., u. H. BURGER: *Naturwiss.* **41**, 261 (1954). — PHILIPPOFF, W.: Die Viskosität disperser Systeme. In *Kolloidchemisches Taschenbuch*. Leipzig 1953. — RANDALL, J. T.: *Nature and structure of Collagen*. London 1953. — RÄNDERATH, E.: Das Bindegewebe. *Verh. dtsh. Ges. Orthop.* (39. Kongr.) **1951**. — REPPE, W.: Polyvinylpyrrolidon. Weinheim 1954. — RÖSSLE, R.: Seröse Entzündung. *Verh. dtsh. path. Ges.* **1944**. — *Virchows Arch.* **311**, 252 (1943). — SCHADE, H.: Die Molekularpathologie der Entzündung. Dresden 1935. — SCHADE, H., u. C. HÄBLER: *Physico-chemische Medizin*. Dresden 1939. — SCHALLOCK, G.: Die experimentellen Retikulosen. *Verh. dtsh. path. Ges.* **1953**. — Neue Untersuchungen über kollagenes und lymphoretikuläres Gewebe. *Arch. f. Dermat.* **198**, 567 (1954). — Lymphoretikuläres Gewebe. *Regensburger Jb. ärztl. Fortbildg* (im Druck). — SCHAUNSTEIN, E., u. M. RATZENHOFER: Zur Struktur von Präkollagen, Kollagen und Hyalin nebst Bemerkungen über die Hyalin-Entstehung. *Verh. dtsh. path. Ges.* **1951**. — SCHLIPKÖTER, H.: Elektronenoptische Untersuchungen silikotischen Gewebes. *Klin. Wschr.* **1955**, 49. — SCHMIDT, K. G.: Über die Ausflockung von Staub. *Staub* **26**, 287 (1951). — SCHMITT, F. O., C. E. HALL and M. A. JAKUS: Investigation of Collagen by electron microscope. *J. Cellul. a. Comp. Physiol.* **20**, 11 (1942). — Electron microscope observations of Collagen. *Amer. Chem. Soc. J.* **64**, 1234 (1942). — SCHUBERT, R.: Zit. bei REPPE. — SCHÜMMELFEDER, N.: Histochemie der Zellatmung. *Verh. dtsh. path. Ges.* **1948**. — SCHUMACHER, H.: Die Abwehrreaktionen der Lunge gegen die silikogene Quarzstaub-Wirkung. *Medizinische* **1954**, 1761. — SIEGMUND, H.: Entstehungsbedingungen silikotischer Schwielen. *Verh. dtsh. path. Ges.* **1934**. — Pathogenese silikotischer Gewebsveränderungen. *Arch. Gewerbepath.* **6**, 1 (1935). — Staublungenerkrankungen, Bd. 60, Darmstadt 1950. *Jb. ärztl. Forsch.* **2**, 1 (1951). — SIGNER, R., u. H. EGLI: Zit. bei A. KUHN. — STAUDINGER, H.: *Hochpolymere organische Verbindungen*. Berlin 1932. — STUDNICKA, F. K.: *Erg. Anat.* **34**, 402 (1952). — TERBRÜGGEN, A.:



Über den Einfluß des Blutserums auf die Nekrobiose. Beitr. path. Anat. **98**, 264 (1936/37). — VANAMEE, P., u. K. R. PORTER: Observations with the electron-microscope on the solvation and reconstitution of Collagen. J. Exper. Med. **94**, 255 (1951). — WÄTJEN, J.: Die Mannsfelder Staublung. Nova Acta Leopoldina **3**, 477 (1936). — WASSERMANN, F.: Anat. Rec. **111**, 145 (1951). — WILLSTÄTTER, R., KRAUT u. LOBINGER: Ber. dtsch. Chem. Ges. **61**, 2280 (1928). — WOLPERS, C.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Pathologie kollagener Fasern. Frankf. Z. Path. **61**, 417 (1950). — Die Querstreifung der kollagenen Bindegewebsfibrille. Virchows Arch. **312**, 292 (1943). — WUNDERLY, CH., u. F. WUHRMANN: Die Bluteiweißkörper des Menschen, 1. Aufl. Basel 1947. — ZAHN, H.: Papierchromatographische Untersuchungen. Melliand Textilber. **35**, 162 (1954).

Dr. HEINRICH SCHMIDT-MATTHIESEN,  
Univ.-Frauenklinik Göttingen.

---