

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn  
(Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

## Über die Bildung von organischen Substanzen in Siliciumdioxydgranulomen\*

Von

PETER GEDIGK und WINFRIED PIOCH

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. Januar 1956)

Die Reaktion der Gewebe auf Siliciumdioxydverbindungen ist von jeher das Ziel vieler Untersuchungen gewesen, so daß wir heute recht umfassende Kenntnisse von ihrer Morphologie besitzen. Von den Stoffwechselvorgängen, die sich dabei abspielen, wissen wir dagegen verhältnismäßig wenig, und insbesondere gehen die Ansichten über Funktion und Leistung der Zellen in den Siliciumdioxydgranulomen noch auseinander.

In der jüngsten Zeit haben HOLZAPFEL und Mitarbeiter die Aufmerksamkeit auf organische Kieselsäureverbindungen, und zwar hauptsächlich Mucopolysaccharidkieselsäureester, gelenkt und deren Bedeutung bei den silikotischen Gewebsveränderungen diskutiert [HOLZAPFEL (1—4); HOLZAPFEL, ENGEL und FAHRNLAENDER]. Bei eigenen histochemischen Untersuchungen [GEDIGK (1)] beobachteten wir unlängst in Übereinstimmung mit CURRAN das Auftreten von perjodsäureschiff-positiven Substanzen in den Mesenchymzellen von Kieselsäuregranulomen und äußerten die Vermutung, daß es sich hierbei um Mucopolysaccharide handeln dürfte. Diese Befunde wurden in einer neueren Arbeit von SCHMIDT-MATTHIESEN bestätigt, der außerdem durch eindrucksvolle Experimente die Reaktionsfähigkeit der kolloidalen Kieselsäure mit Serumweißkörpern, Mucopolysacchariden und Enzymen *in vitro* demonstrieren konnte.

Bei allen Untersuchungen war jedoch keine nähere histochemische Charakterisierung der Reaktionsprodukte der Fibroblasten vorgenommen worden und damit die Frage offen geblieben, wieweit wir berechtigt sind, zwischen Reagensglasversuchen und Tierexperimenten eine Verbindung zu knüpfen.

Weiterhin war es von Interesse zu wissen, welche morphologischen Beziehungen zwischen dem als Fremdkörper in die Zelle aufgenommenen Siliciumdioxyd und ihren Stoffwechselprodukten bestehen.

\* Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Schließlich war auch zu klären, ob Unterschiede bestehen zwischen den Gewebsreaktionen auf basische und saure anorganische Fremdkörper, wie es das Siliciumdioxyd ist.

Zur Bearbeitung dieser Fragen haben wir eine Reihe von Siliciumdioxydverbindungen als wässrige Suspensionen in die Subcutis und in die Bauchhöhle von Mäusen injiziert und dabei das funktionelle Verhalten der Zell- und Gewebeelemente in den so erzeugten Granulomen geprüft.

### Versuchsanordnung und Methoden

*Tierversuche.* Zu den Versuchen wurden 12—20 Wochen alte, weiße Inzuchtmäuse mit einem Gewicht von 22—30 g verwendet, die zunächst eine gemischte Kost (Milch-Hafer-Brotdiät) und später Würfelfütterung (Latz-Standardkost nach BAHNER) erhielten. Zwischendurch wurden zusätzlich Karotten und Salatblätter gegeben.

Diesen Tieren haben wir folgende Siliciumdioxydverbindungen als wässrige Suspensionen subcutan am Rücken injiziert:

30 Tieren wurde je 0,1 ml gefällte, trockene Kieselsäure ( $\text{SiO}_2 + \text{Aq.}$ ; Acid. silic. via humida parat. sicc. Merck 657; Teilchengröße 0,1  $\mu$ ) injiziert. Davon erhielten 20 Tiere diese Substanz in einer 10%igen wässrigen Suspension, weitere 10 Tiere in physiologischer Kochsalzlösung.

15 Tieren wurde 0,1 ml einer 10%igen Suspension von gelatinöser reiner Kiesel säure (Acid. silic., Riedel 832), die 3 Tage gegen Wasser dialysiert worden war, subcutan unter die Rückenhaut injiziert.

30 Tiere wurden mit Quarz behandelt: 10 Tiere davon erhielten 0,1 ml einer 10%igen Suspension von Quarz (gereinigtes eisenfreies Pulver; Riedel 8488) in physiologischer Kochsalzlösung. Die Teilchengröße dieser Aufschwemmung lag unter 2  $\mu$ .

15 Mäusen wurde 0,1 ml einer 10%igen Aufschwemmung von Quarz (gekörtnt, eisenfrei, Riedel 30985) in bidest. Wasser injiziert. Vor der Injektion wurde der Quarz im Mörser zerrieben. Die Teilchengröße war sehr unterschiedlich, sie lag teilweise über 5  $\mu$ .

Schließlich injizierten wir 5 Tieren intraperitoneal eine 10%ige Aufschwemmung von feinpulverisiertem Quarz (Teilchengröße unter 3  $\mu$ ).

Die Tiere wurden jeweils am 7., 14., 23., 30., 40., 55., 75., 85., 100., 120. und 150. Versuchstag getötet. Die Versuche mit dem feinkörnigen Quarz setzten wir bis zum 225. Tag, die Experimente mit dem grobkörnigen Quarz (Riedel 30985) bis zum 200., 300. und 365. Tag nach der Injektion fort.

Im Bereich der Substanzablagerungen wurde die Rückenhaut unter Mitnahme der oberflächlichen Lagen der langen Rückenmuskulatur abpräpariert. Die Granulome ließen sich fast immer als kleine Knötchen tasten oder als stecknadelkopf- bis reiskorngroße, graugelbliche, flache Substanzablagerungen in der Subcutis mit bloßem Auge erkennen.

Die abpräparierten Gewebsstücke wurden in einer 10%igen neutralen Formalinlösung (10 ml 40%iges Formalin, 10 ml 10%iges  $\text{CdCl}_2$ , 10 ml

10%iges CaCl<sub>2</sub> werden mit dest. Wasser auf 100 ml aufgefüllt) 16 bis 24 Std fixiert und in der üblichen Weise in Paraffin eingebettet.

### Histochemische Methoden

#### *I. Histochemische Reaktionen zum Nachweis von Siliciumdioxydverbindungen*

1. Quarz wurde *polarisationsoptisch* im histologischen Schnitt nachgewiesen.

2. Für die Darstellung der *Kieselsäure* haben wir in erster Linie die Methode der *Schnittveraschung* (Herstellung von Spodogrammen) verwandt (POLICARD und OKKELS, HINTZSCHE, HACKMANN, SCHULTZ-BRAUNS, BAGINSKY, SCOTT, HERRMANN).

Wir benutzten für unsere Versuche einen elektrischen Muffelofen der Firma Heraus (MR 170), der nach unseren Angaben durch Herabsetzung der Anfangsspannung unter Minderung der Maximaltemperatur auf 750° C umgebaut worden war. Wir erreichten damit eine genauere Regulierung der Erhitzung im unteren Temperaturbereich von 70—150° C.

Zur Herstellung der Spodogramme dienten Paraffinschnitte, die mit Eiweißglycerin auf gewöhnliche Objektträger aufgeklebt waren und auf einer Porzellانplatte in die Muffel gebracht wurden. Bei dem Veraschungsprozeß ließen wir die Temperatur in der ersten halben Stunde auf etwa 250° C ansteigen, wobei von der Ausgangstemperatur (etwa 20° C) bis 180° C ungefähr 20 min benötigt wurden. In weiteren 30 min stieg die Temperatur von 250° C auf 500° C. Unter langsamem, weiterem Anstieg der Temperatur auf 560—600° C wurden die Schnitte noch 1 Std und im geschlossenen Ofen belassen. Dann wurde der Ofen abgeschaltet und durch allmähliches Öffnen der Klappe in etwa 2 Std langsam abgekühlt (vgl. auch POLICARD, HACKMANN usw.).

Wir konnten ebenso wie HINTZSCHE feststellen, daß bei diesem Verfahren die gewöhnlichen Objektträger durchaus brauchbar waren, sich nicht verbogen oder bei der Abkühlung Sprünge bekamen. Nach der Veraschung untersuchten wir das Spodogramm mit dem Mikroskop auf die Vollständigkeit der Verbrennung.

Zur Darstellung der Kieselsäureablagerungen färbten wir anschließend das Spodogramm auf der Färbebank 20 min mit einer 0,5%igen wäßrigen Toluidinblaulösung, spülten vorsichtig den Farbüberschuß mit Wasser ab und mikroskopierten nach Eindecken mit Immersionsöl. Am besten hat es sich bewährt, das vom Toluidinblauüberschuß befreite Spodogramm im Brutschrank bei 56° C kurz zu trocknen und dann einen Tropfen Immersionsöl aufzutropfen. Ohne Auflage eines Deckgläschen konnten wir dann sehr gut mit dem Immersionsobjektiv mikroskopieren und auch photographieren. Zur Beobachtung mit dem Trockensystem bedeckten wir anschließend das Spodogramm mit einem dünnen Deckgläschen, ohne daß es dabei zu Verschiebungen im Aschenbild kam. Die Anfärbung der Kieselsäurepartikel mit Toluidinblau blieb bei diesem Verfahren gut erhalten.

Die Annahme, daß im Aschenbild mit Toluidinblau Kieselsäure angefärbt wird, ist unseres Erachtens aus folgenden Gründen berechtigt:

1. Nach der Entfernung der organischen sauren Gewebeelemente, wie der Nucleinsäuren, der sauren Mucopolysaccharide und der sauren Lipide, bleibt — per exclusionem — nur die Kieselsäure als einziger in größeren Mengen vorkommender saurer anorganischer Stoff im Spodogramm zurück.

2. Die amorphe Kieselsäure läßt sich — wie es unschwer in Testversuchen gezeigt werden kann — mit Thiazinfarbstoffen metachromatisch anfärbten. Auch im Spodogramm sind die Kieselsäurepartikel metachromatisch.

3. In Reagensglasversuchen läßt sich nachweisen, daß die Kieselsäure wegen ihrer Acidität eine ausgesprochene Affinität für kolloidales Eisen besitzt. Auch im Aschebild kann diese Eisenaffinität leicht demonstriert werden.

Aus diesen Feststellungen geht aber hervor, daß der Nachweis der Basophilie (Acidität) in allen nicht veraschten Schnitten von Siliciumdioxydgranulomen nur von geringem histochemischen Wert ist. Neben den üblichen organischen basophilen Strukturelementen müssen in diesen Präparaten noch zusätzlich die Siliciumdioxydverbindungen differentialdiagnostisch berücksichtigt werden. Ohne die Anwendung der Schnittveraschungsmethode und der enzymatischen Hydrolysen sind daher keine weiteren histochemischen Rückschlüsse aus basophilen Färbeeffekten statthaft. Der Nachweis von sauren Mucopolysacchariden oder Nucleinsäuren mit basischen Farbstoffen, bzw. der Hale-Reaktion ist somit in Schnitten von kieselsäurehaltigen Granulomen nur bei gleichzeitiger Durchführung der genannten Kontrollen möglich.

Zur morphologischen Orientierung ist es jedoch statthaft, die Kieselsäure mit Toluidinblau auch im (nicht veraschten) Schnitt darzustellen, weil sie sich — wie oben gezeigt wurde — mit diesem Thiazinfarbstoff metachromatisch anfärbt. Es ist dann aber erforderlich, den Nachweis zu erbringen, daß nicht andere saure Gewebeelemente der Basophilie und Metachromasie zugrunde liegen.

## *II. Histochemische Reaktionen zum Nachweis von Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden*

Die von uns verwandten histochemischen Reaktionen zum Nachweis von Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden können der Tabelle entnommen werden.

### **Untersuchungsergebnisse**

#### *I.*

Die erste Gruppe von Versuchen galt der Frage, welche Stoffwechselvorgänge bei der Ablagerung und Speicherung von *kolloidaler Kiesel-*

säure in einem mesenchymalen Gewebe zu beobachten sind. Dabei ließen sich folgende Befunde erheben:

*Wenige Tage nach der Injektion* der Kieselsäure ist das subeutane Bindegewebe aufgelockert. Die ortsständigen Bindegewebzellen und Fasern sind auseinander gedrängt. An vielen Zellen sind regressive Veränderungen und Zeichen des Untergangs bis zum bröckeligen Zerfall der Kerne erkennbar. Die Kieselsäure liegt in Form kleinerer und größerer feinkörniger Klumpen in den Saftspalten. Histochemisch bieten die erhaltenen Mesenchymzellen keine Besonderheiten: Ihr Cytoplasma ist mit der PAS-Reaktion nicht anfärbar, es enthält nicht vermehrt Fettstoffe und ist nicht basophil. Mit der Tetrazoniumreaktion wird es in der üblichen Weise tief dunkelrot-braun gefärbt. Auch die Kieselsäurepartikel sind nicht PAS-positiv.

*Zwei bis drei Wochen nach der Injektion* ist eine deutliche Vermehrung der Mesenchymzellen erkennbar. Während im Zentrum des Injektionsbezirkes noch nekrotische Gewebsmassen liegen, finden sich am Rand bereits reichlich Fibroblasten, die offenbar aus dem umgebenden Bindegewebe eingewandert sind. Einige dieser Zellen sind deutlich vergrößert und von rundlicher Form. Schon mit der Hämatoxylin-Eosin-Färbung lässt sich in ihrem Cytoplasma eine feine, schwach graublauish gefärbte Granulierung erkennen, die fast gleichmäßig über den Zelleib verteilt ist. Zwischen diesen Zellen findet sich ein feines Gerüst von kollagenen Fasern. Die Saftspalten enthalten noch reichlich Kieselsäurekörnchen und -klumpen. Auch in den proliferierenden Mesenchymzellen lassen sich vielfach körnige Kieselsäurepartikel nachweisen.

Mit histochemischen Methoden kann an den großen Mesenchymzellen nunmehr eine Reihe von Befunden erhoben werden. Wie bereits früher erwähnt [GEDIGK (1)], lassen sich die feinen Granula im Cytoplasma dieser Zellen mit Perjodsäure-Leukofuchsin leuchtend rot färben. Diese histochemische Reaktion ist daher auch für den histologischen Nachweis dieser Zellart gut geeignet. Auffällig ist weiterhin die deutliche Basophilie dieser Granula; ihre Methylenblaubindefähigkeit lässt sich bis  $p_H$  2,5 verfolgen. Sie können daher auch leicht mit allen basischen Farbstoffen, wie Methylenblau, Toluidinblau und Astrablau<sup>1</sup> sichtbar gemacht werden. Bei der Toluidinblaufärbung zeigen sie außerdem einen metachromatischen Farbumschlag. Die Granula besitzen weiterhin eine starke Eisenbindefähigkeit. Bringt man die Schnitte in eine kolloidale Eisenhydroxydlösung und wird anschließend die Berliner Blau-Reaktion durchgeführt, so sind die Körnchen tief dunkelblau gefärbt.

<sup>1</sup> Herrn Dr. H. HARMS, Leverkusen-Bayerwerk, danken wir für die liebenswürdige Überlassung einer Substanzprobe dieses basischen Farbstoffes. Nach unseren bisherigen Erfahrungen ist Astrablau sehr gut (besser als Alicanblau) zur histochemischen Darstellung von Mucopolysacchariden geeignet.

Sie werden auch auf diese Weise geradezu selektiv im histologischen Schnitt dargestellt. Mit Sudanfarbstoffen lassen sich die Körnchen nicht oder nur ganz schwach anfärben. Bei der Tetrazoniumreaktion nehmen sie einen braunroten Farbton an.

*Im Laufe der folgenden Zeit, d. h. 2—10 Monate nach der Injektion,* entwickelt sich im Bereich der Kieselsäureablagerung ein zellarmes Granulationsgewebe: Es tritt in zunehmendem Maße eine teils fein-, teils mehr grobfaserige Grundsubstanz in Erscheinung, zwischen der in wechselnder Menge die bereits oben beschriebenen großen Mesenchymzellen liegen. Die nekrotischen Massen im Zentrum des Granuloms verschwinden mehr und mehr und sind nach 4—5 Monaten in der Regel nicht mehr nachweisbar. Schließlich findet man im Injektionsgebiet ein faserreiches und stellenweise auch hyalines Schwielengewebe, bei dessen Zellelementen es sich fast ausschließlich um die erwähnten ballonförmig aufgetriebenen Fibroblasten handelt. Freie, extracelluläre Kieselsäure ist in diesen älteren Granulomen histologisch nicht mehr zu erkennen.

Die histochemische Untersuchung dieser älteren Granulome ergibt folgende Befunde (Abb. 1—4): Die im Cytoplasma der großen Bindegewebszellen liegenden Körnchen sind — genau wie in den jüngeren Granulomen — stark PAS-positiv und basophil. Sie binden kolloidales Eisenhydroxyd und können daher mit der Hale-Technik gut dargestellt werden. Außerdem besitzen sie nunmehr eine deutliche, auch im Paraffinschnitt nachweisbare Sudanophilie. Mit der Tetrazoniumreaktion werden sie dunkelbraunrot gefärbt. — Die Intercellularsubstanz wird in den jüngeren Granulomen mit der PAS-Technik tiefrot gefärbt. In den älteren Granulomen verlieren die Fasern mehr und mehr ihre Reaktionsfähigkeit mit Perjodsäure und nehmen schließlich nur noch einen schwach rötlichen Farbton an. Sie verhalten sich im übrigen bei den üblichen Bindegewebefärbungen genau wie kollagene Fasern: Mit der van Gieson-Färbung werden sie rot, bei der Masson-Trichromfärbung blau gefärbt.

Ein annähernd gleiches Bild erzielten wir bei den Versuchen mit gelatinöser Kieselsäure. Auch in diesen Granulomen kam es zur Bildung von siliciumdioxydhaltigen aufgeblähten Mesenchymzellen, deren Cytoplasma eine feine, fast gleichmäßig verteilte PAS-positive, basophile und sudanophile Granula besaß. Daneben beobachteten wir gelegentlich eine Abkapselung kleiner Teile der Kieselsäureablagerungen in cystischen Hohlräumen, die von einer flachen bis kubischen Zellschicht ausgekleidet waren.

*In besonderen Experimenten haben wir geprüft, welche morphologischen Beziehungen zwischen den Kieselsäureablagerungen und den neu gebildeten organischen Stoffen bestehen.* In den ersten Versuchstagen ließ sich diese Frage leicht beantworten, weil die Kieselsäure kurze Zeit nach der Injektion noch in der Form gut sichtbarer feinkörniger Klumpen und

Haufen im Zwischengewebe und im Cytoplasma der Phagocyten liegt. Diese körnigen Kieselsäurepartikel verschwinden aber mehr und mehr

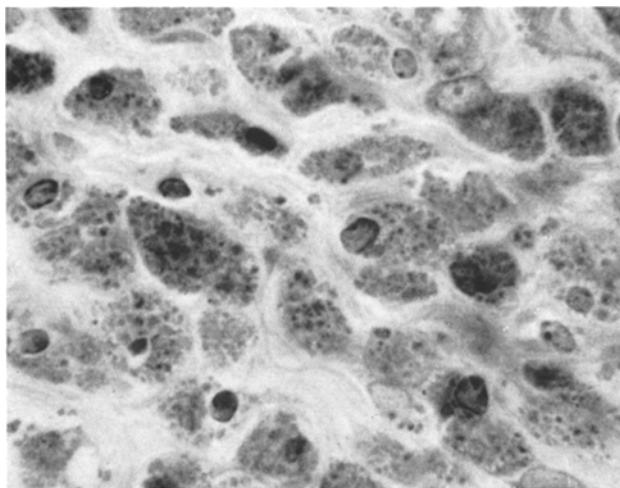


Abb. 1. Phagocyten in einem subcutanen Kieselsäuregranolom 100 Tage nach der Injektion. PAS-Reaktion. Im Cytoplasma sehr ausgeprägte PAS-positive Granula. Vergr. 945 mal

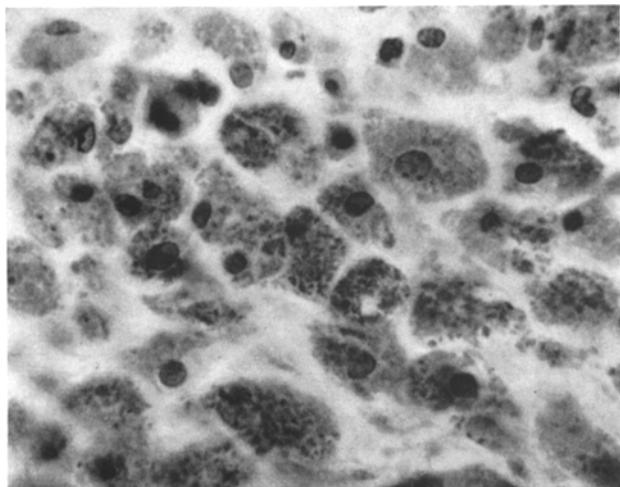


Abb. 2. Phagocyten in dem gleichen Kieselsäuregranolom (100 Tage alt) wie in Abb. 1. Nach Einbringen des Schnittes in eine kolloidale Eisenhydroxydlösung wurde die Berliner Blau-Reaktion durchgeführt. Die Granula zeigen starke Eisenaffinität. Vergr. 864 mal

und sind 4—6 Wochen nach der Injektion nur noch selten zu finden. Sie werden von den Gewebssäften und von den Zellen offenbar aufgelöst.

Zur histochemischen Darstellung der gelösten und anscheinend an organische Gewebsbestandteile gebundenen Kieselsäure haben wir dann das

Gewebe vorsichtig verascht und die zurückbleibende Kieselsäure durch Anfärbung mit einem basischen Farbstoff, und zwar in der Regel mit Toluidinblau, sichtbar gemacht (vgl. Methodik).



Abb. 3. Phagocyten in einem Kieselsäuregranulom 100 Tage nach der Injektion, Färbung mit Sudanschwarz. Die Granula deutlich sudanophil. Vergr. 864 mal

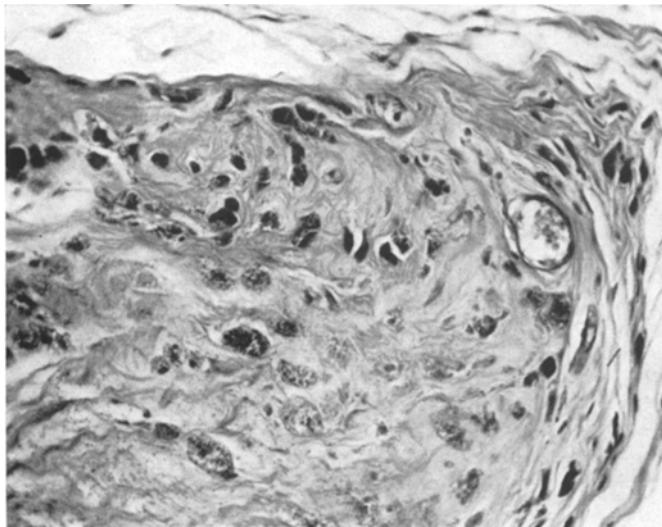


Abb. 4. Ausschnitt aus einem subcutanen Kieselsäuregranulom 120 Tage nach der Injektion, PAS-Reaktion. In der sehr reichlichen, faserigen und hyalinen Zwischensubstanz finden sich Phagocyten mit PAS-positiven Granula. Vergr. 239 mal

Im einzelnen sind wir dabei folgendermaßen vorgegangen: Von den mit Perjodsäure-Leukofuchsin gefärbten Schnitten fertigten wir zunächst

Photographien an. Nach der Veraschung wurden dann die gleichen Präparate mit Toluidinblau gefärbt und erneut photographiert. Durch den Vergleich der beiden Bilder ließ sich zeigen, daß genau *dieselben Zellen*,

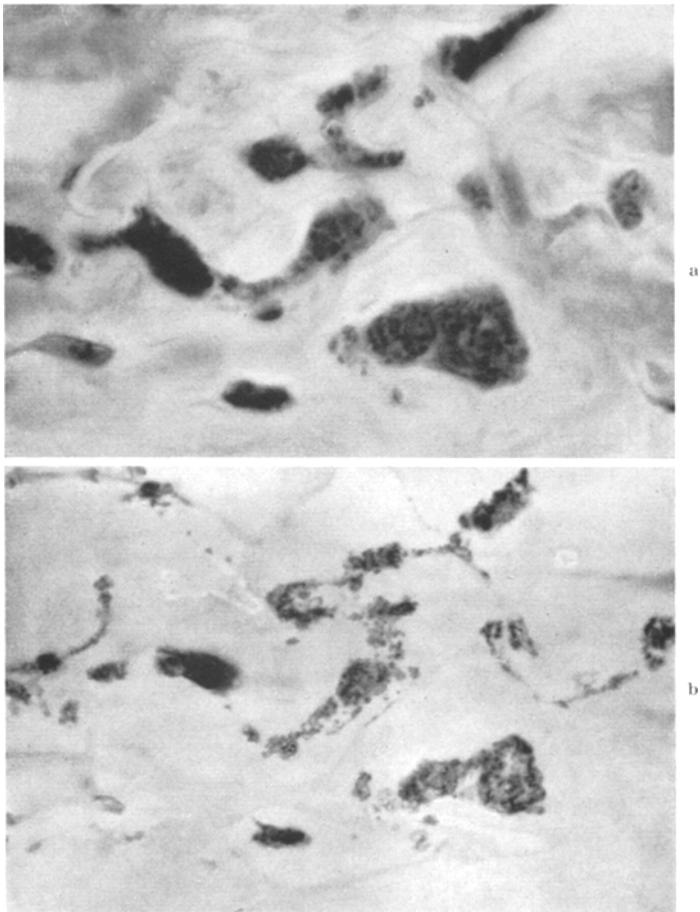


Abb. 5a u. b. Phagocyten in einem Kieselsäuregranulom 160 Tage nach der Injektion. Vergr. 1290mal. a PAS-Reaktion. b Färbung mit Toluidinblau nach der Veraschung. Die Kieselsäurepartikel liegen in annähernd der gleichen Anordnung im Cytoplasma wie die PAS-positive Granula.

welche reichlich Polysaccharide enthalten, auch mit Kieselsäure beladen sind. Außerdem war die Kieselsäure — genau wie die Polysaccharide — in Form kleiner Körnchen im Cytoplasma abgelagert, deren Größe und Verteilung völlig den PAS-positiven Granula entsprach (Abb. 5 und 8). Freilich ist es nach der Veraschung nicht mehr möglich, ein ganz bestimmtes PAS-positives Körnchen nunmehr mit Toluidinblau angefärbt

wiederzufinden, so wie es bei dem Vergleich der nicht veraschten Schnitte ohne weiteres gelingt. Denn es kommt bei dem Verbrennungsprozeß offenbar zu kleineren Schrumpfungen und Verziehungen von Gewebs-

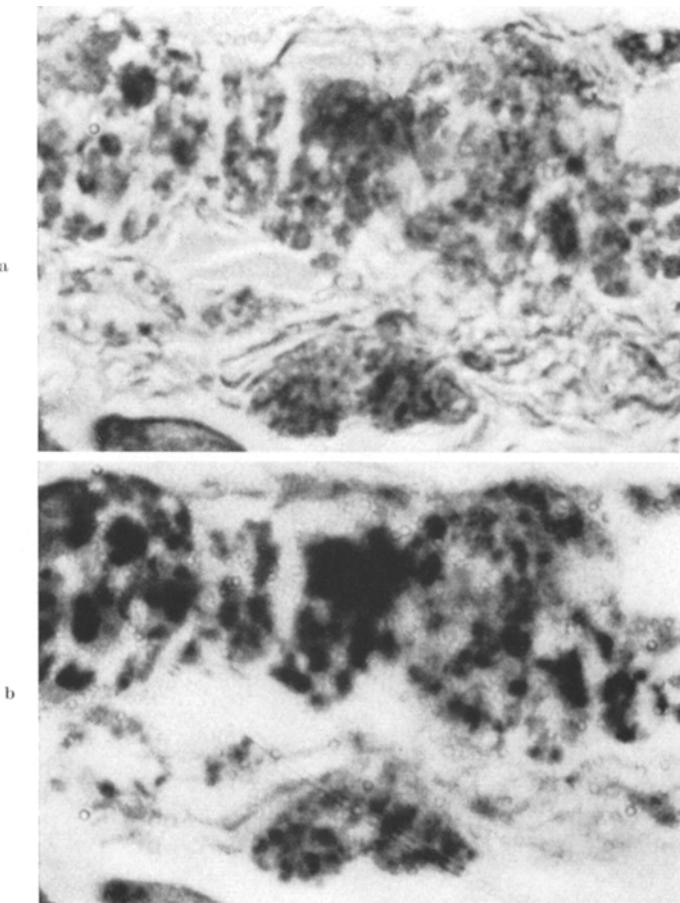


Abb. 6a u. b. Phagocyten in einem Kieselsäuregranulom 160 Tage nach der Injektion. Vergr. 2580 mal. a Färbung mit Toluidinblau. b PAS-Reaktion am gleichen Schnitt nach Entfärbung mit Salzsäure-Alkohol. Die Mucopolysaccharide finden sich genau an den gleichen Stellen im Cytoplasma wie die metachromatisch angefärbte Kieselsäure

strukturen, und damit zur Verlagerung einzelner Körnchen. Daß diese Verschiebungen geringfügig sind, wurde bereits betont, und läßt sich aus den Abb. 5 und 8 entnehmen.

Die morphologischen Beziehungen zwischen der Kieselsäure und den Polysacchariden lassen sich auch dadurch nachweisen, daß man den Schnitt eines Kieselsäuregranuloms zuerst mit Toluidinblau färbt und

photographiert, anschließend — nach der Entfernung des basischen Farbstoffes mit Salzsäurealkohol — die PAS-Reaktion durchführt und dann den „umgefärbten“ Schnitt nochmals photographiert. Das mit der Toluidinblaufärbung erzielte Bild stimmt dann völlig mit dem bei der PAS-Reaktion gewonnenen überein (Abb. 6).

Da wir auf Grund unserer Versuche bei der Schnittveraschung annehmen dürfen, daß mit Toluidinblau die gelöste Kieselsäure dargestellt wird (vgl. Methodik), läßt sich auch auf diese Weise die Übereinstimmung in der morphologischen Lokalisation der Kieselsäure und der Mucopolysaccharide demonstrieren.

*Aus diesen Experimenten geht somit hervor, daß die resorbierte Kieselsäure innerhalb der PAS-positiven Granula abgelagert wird.*

## II.

In einer weiteren Gruppe von Experimenten wurden wäßrige Quarzaufschwemmungen in die Subcutis von Mäusen injiziert. Das Ergebnis dieser Versuche wich in mehrfacher Hinsicht von dem Resultat der eben besprochenen Kieselsäureversuche ab.

*In den ersten Tagen nach der Injektion* liegen die Quarzkristalle zwischen den auseinandergedrängten Bindegewebfasern und Fibroblasten. An manchen Stellen zeigen die ortständigen Zellen deutliche Zeichen einer Schädigung. Histochemisch verhalten sich zunächst die Fibroblasten genau wie in anderen Geweben, ihr Cytoplasma ist nicht PAS-positiv oder basophil und enthält nicht vermehrt Fettstoffe. Bei der Tetrazoniumreaktion nimmt es einen dunkelbraunroten Farbton an.

*Nach etwa 14 Tagen* sind die Saftspalten wieder enger geworden, und es läßt sich bereits eine Vermehrung der mesenchymalen Zellen feststellen. Einige Quarzkristalle sind schon von den gewucherten Mesenchymzellen phagocytiert worden. Größtenteils liegen die Kristalle jedoch extracellulär in den Saftspalten. In den Randbezirken dieser Quarzgranulome findet sich eine Vermehrung der Intercellularsubstanz, und zwar treten hier zwischen den Fibroblasten bereits kollagene Fasern in Erscheinung.

Mit histochemischen Methoden lassen sich an den proliferierenden Bindegewebzellen noch keine nennenswerten Veränderungen feststellen. Auch diejenigen Zellen, welche Quarzkristalle phagocytiert haben, besitzen noch keine PAS-positiven, basophilen oder sudanophilen Substanzen im Cytoplasma.

*In den folgenden Wochen und Monaten* ändern sich diese Befunde nur sehr langsam: Im Bereich der Quarzablagerungen wird die Vermehrung der mesenchymalen Zellelemente immer sinnfälliger, so daß die älteren Quarzgranulome aus dicht nebeneinanderliegenden, spindeligen bis rundovalen Mesenchymzellen bestehen. Im Cytoplasma dieser Zellen finden

sich häufig kleinere und größere Quarzkristalle. Daneben lassen sich aber auch in den Saftspalten noch reichlich extracelluläre Quarzteilchen nachweisen. Die Neubildung von kollagenen Fasern nimmt an der Peripherie der Granulome weiterhin zu. Ganz vereinzelt können — vor allem bei einer Versuchsdauer von mehr als 4 Monaten — auch in den zentralen Bezirken schon feine kollagene Fasern festgestellt werden.

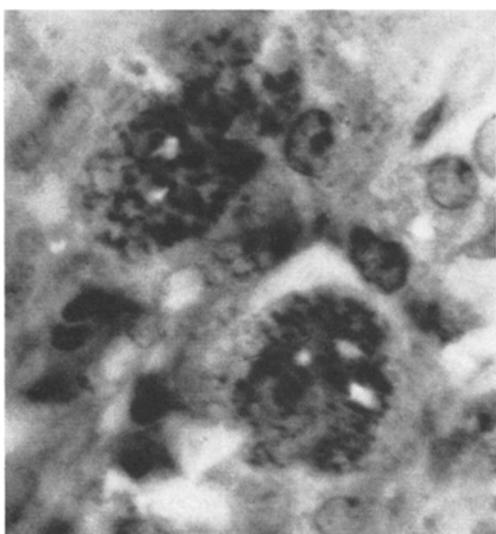


Abb. 7. Phagocyten in einem subcutanen Quarzgranulom 85 Tage nach der Injektion. PAS-Reaktion. Vergr. 1500mal. Das Cytoplasma der Mesenchymzellen enthält reichlich feine PAS-positive Granula um die phagocytierten Kristalle

mit phagocytiertem Quarz, deren Cytoplasma noch keine PAS-positiven Stoffe enthält.

*Die ältesten Quarzablagerungen, die wir untersucht haben waren 1 Jahr alt.* Morphologisch sind diese Granulome gleichfalls durch ihren Zellreichtum ausgezeichnet. Die interzelluläre Fasersubstanz hat zwar zugenommen, sie ist im ganzen aber doch nur spärlich entwickelt. Im Cytoplasma der gewucherten Bindegewebszellen lassen sich reichlich Quarzkristalle nachweisen. Daneben liegen aber auch in diesen alten Granulomen noch Quarzkristalle unverarbeitet in den Saftspalten.

Das Cytoplasma der meisten Phagocyten enthält nunmehr PAS-positive Substanzen, und zwar hauptsächlich in der Form von feinen Körnchen und kleinen Schollen in der Umgebung der Kristalle. Selbst in diesen alten Granulomen findet man aber noch Mesenchymzellen, deren Cytoplasma trotz der Speicherung von Fremdkörperkristallen keine PAS-Reaktion gibt. Die Granula sind im übrigen — genau wie in den jüngeren Granulomen — basophil und sudanophil.

Mit der PAS-Technik lassen sich nach einer Versuchsdauer von 3—5 Monaten im Cytoplasma vieler Zellen kleine rot gefärbte Körnchen darstellen. Sie liegen hauptsächlich in denjenigen Zellen, welche Quarzkristalle phagocytiert haben (Abb. 7). Histochemisch verhalten sie sich genau wie die Granula in den großen Mesenchymzellen der Kieselsäuregranulome. Die Körnchen sind basophil und sudanophil und lassen sich auch mit der Hale-Technik anfärben. Daneben findet man jedoch häufig Zellelemente

Bei den *intraperitonealen Quarzablagerungen* verliefen die histochemischen Gewebsreaktionen im Prinzip genau so wie bei den subcutanen Granulomen. Die Phagocyten enthielten auch hier reichlich PAS-positive, sudanophile und basophile Stoffe.

*Unterschiede in der Verarbeitung einzelner Quarzarten* haben insofern bestanden, als die morphologischen und histochemischen Gewebsreaktionen bei der Verabfolgung von kleineren Quarzkristallen schneller erfolgten als bei den größeren. Je kleiner die injizierten Quarzteilchen waren, um so lebhafter waren auch die Zellproliferation und die Faserbildung, und um so schneller setzte auch die intracelluläre Produktion der PAS-positiven Stoffe ein. So fanden wir bei dem feinpulverisierten Quarz Bilder, die durchaus an die Befunde bei den Kieselsäuregranolomen erinnerten.

Als Nebenbefunde haben wir in mehreren Quarzgranulomen Blutungen und Eisenpigmentablagerungen beobachtet. Im Gegensatz zu den Quarzphagocyten ließ sich in den eisenspeichernden Zellen sehr schnell, häufig schon nach 2–3 Wochen, eine positive PAS-Reaktion erzielen, so wie wir es auch in früheren Untersuchungen an Eisenoxydgranulomen gefunden haben (GEDIGK und STRAUSS).

Weiterhin sind wir der Frage nachgegangen, welche morphologischen Beziehungen zwischen den Quarzablagerungen und den reaktiv gebildeten organischen Substanzen bestanden. In der Regel war dieses Problem wegen der einfachen Auffindung der Fremdkörperkristalle im histologischen Schnitt leicht zu lösen: Die Kristalle waren meistens schon im Lichtmikroskop gut erkennbar, so daß in den gefärbten Schnitten gleichzeitig die anorganischen Fremdkörper und die PAS-positiven oder sudanophilen Substanzen zu sehen waren. Für den Nachweis des feinkörnigen Quarzes mußten wir dagegen das Polarisationsmikroskop zu Hilfe nehmen. Es wurde dann zunächst von den mit Perjodsäure-Leukofuchsin oder Sudanschwarz gefärbten Schnitten eine Photographie angefertigt und anschließend das gleiche Präparat im polarisierten Licht bei gekreuzten Nicols nochmals photographiert. Durch den Vergleich der beiden Bilder waren die örtlichen Beziehungen zwischen den organischen Stoffen und den Quarzkristallen nunmehr ohne weiteres festzustellen.

Die feinsten Quarzkristalle ließen sich manchmal auch mit dem Polarisationsmikroskop nicht eindeutig nachweisen, so daß wir für ihre Darstellung auf die Methode der Schnittveraschung zurückgreifen mußten.

Genau wie bei der Verarbeitung von grobkristallinen Schwermetallverbindungen [GEDIGK und STRAUSS (3); GEDIGK und PROCH] fanden wir auch bei diesen Versuchen, daß die Fremdkörperkristalle häufig von PAS-positiven Stoffen umgeben werden. Diese organischen

Substanzen waren in den Quarzgranulomen hauptsächlich in der Form feiner Körnchen abgelagert, gelegentlich traten sie auch als ein homogener, den Fremdkörper einschließender, PAS-positiver Cytoplasmasaum in Erscheinung (Abb. 7).

Es ließ sich jedoch — im Gegensatz zu den Schwermetallgranulomen — keinesfalls in allen quarzenthaltenden Zellen eine PAS-Reaktion erzielen. Neben Phagocyten, in deren Cytoplasma reichlich PAS-positive Stoffe nachweisbar waren, fanden sich solche ohne eine deutliche PAS-Reaktion oder Sudanophilie.

### III.

Weiterhin hatten wir die Möglichkeit Material zu untersuchen, das von *Versuchen zur Erzeugung von intrapulmonalen Staubgranulomen bei Ratten* stammte. Es handelte sich dabei um die Lungen von Tieren, denen verschiedene Stäube intratracheal verabfolgt wurden, und deren Organe nach einer Versuchsdauer von 5 bis 9 Monaten zur Untersuchung gelangten<sup>1</sup>. Trotz der sehr unterschiedlichen Versuchs-

Tabelle 1. *Übersicht über die histochemischen Eigenschaften der reaktiv gebildeten intracellulären organischen Substanz in Siliciumdioxydgranulomen<sup>2</sup>*

Histochemische Reaktionen	
<i>Nachweis von Eiweißstoffen:</i>	
Tetrazoniumreaktion . . . . .	+++
Tetrazoniumreaktion nach Benzoylierung . . . . .	(±)
Argininreaktion . . . . .	+
<i>Nachweis von Kohlenhydraten:</i>	
PAS . . . . .	+++
PAS nach Acetylierung . . . . .	—
PAS nach Acetylierung und Verseifung . . . . .	++
PAS nach Diastase . . . . .	+++
Schiffreaktion . . . . .	—
Methylenblaubindung bis pH . . . . .	2,4
Methylenblaubindung bis pH nach Hyaluronidase . . . . .	3,2
Färbung mit Astrablau . . . . .	++
Färbung mit Toluidinblau . . . . .	++
Färbung mit Toluidinblau nach Schnittveraschung . . . . .	++
Metachromasie . . . . .	+
<i>Nachweis von Lipiden:</i>	
Färbung mit Sudan III/IV . . . . .	+
Färbung mit Sudanschwarz . . . . .	++
Perameisensäure-Schiffreaktion . . . . .	(±)
Ameisensäure-Schiffreaktion . . . . .	—
Fluorescenz . . . . .	+
<i>Berliner Blau-Reaktion</i> . . . . .	—
<i>Histologische Färbungen:</i>	
Hämatoxylin-Eosin . . . . .	rötlichblau
Färbung mit Carbol-Fuchsin nach ZIEHL-NEELSEN . . . . .	—
Bindegewebsfärbung nach MASSON . . . . .	rotviolett
VAN GIESON-Färbung . . . . .	gelb

<sup>1</sup> Herrn Priv.-Doz. Dr. H. LÜCHTRATH (Pathologisches Institut der Universität Bonn) danken wir herzlich für die liebenswürdige Überlassung dieses Materials.

<sup>2</sup> Die Durchführung der histochemischen Reaktionen ist in einer zusammenfassenden Darstellung von GEDIGK angegeben worden.

bedingungen haben wir in diesen Fremdkörpergranulomen die gleichen histo-chemischen Befunde erhoben wie bei den subeutanen Siliciumdioxydablagerungen.

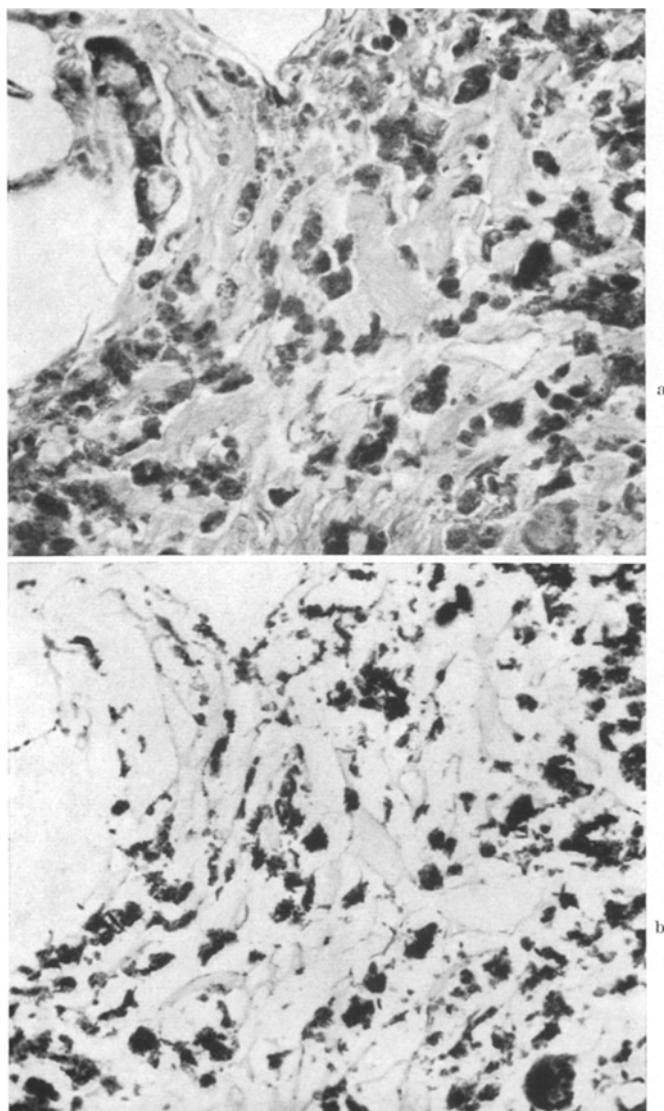


Abb. 8a u. b. Kaolingranulom in der Lunge 9 Monate nach der Inhalation. Vergr. 330mal.  
a PAS-Reaktion. Im Cytoplasma der Phagocyten reichlich PAS-positive Granula.  
b Toluidinblaufärbung nach der Veraschung des gleichen Schnittes. Die Kieselsäure findet  
sich fast in der gleichen Anordnung wie die PAS-positiven Substanzen

So enthielt z. B. das Cytoplasma der Phagocyten in *Kaolinknötchen* sehr reichlich kleine PAS-positive, basophile Körnchen, denen im Aschebild eine feinkörnige, intracelluläre Ablagerung dieser Siliciumverbindung entsprach (vgl. Abb. 8). Bei den *Quarzstaubknötchen* fanden wir — ebenfalls in Übereinstimmung mit unserem

eigenen Material — in wechselndem Umfang intracelluläre Mucopolysaccharide, wobei deren Menge im wesentlichen von der Teilchengröße des verabfolgten Fremdkörpers abhing.

#### IV.

Bei allen Granulomen haben wir durch eine Reihe von *histochemischen Reaktionen* versucht, die *chemische Natur der im Cytoplasma aufgetretenen Stoffe näher zu definieren*. Das Ergebnis dieser Versuche kann der Tabelle 1 entnommen werden.

### Diskussion

#### *I. Welche Substanzen entstehen in den Phagocyten der Siliciumdioxydgranulome?*

Zunächst muß anhand der Ergebnisse der histochemischen Reaktionen zu der Frage Stellung genommen werden, welche Substanzen in den Phagocyten der Siliciumdioxydgranulome entstehen.

Wegen des positiven Ausfalls der Tetrazoniumreaktion dürfen wir auf das Vorhandensein von aromatischen Aminosäuren und damit von *Eiweißstoffen* schließen. Dieser Befund wird dadurch bestätigt, daß die Kupplungsfähigkeit mit tetrazotiertem Benzidin durch die vorherige Behandlung der Schnitte mit Benzoylchlorid unterdrückt werden kann. Besonders auffällig war die starke Anfärbbarkeit der Granula in den Phagocyten mit Perjodsäure-Leukofuchsin. Wegen des Nachweises der reversiblen Acetylierung und der Resistenz gegen Diastase, sowie in Anbetracht des Befundes, daß die positive PAS-Reaktion in jüngeren Granulomen ohne gleichzeitige Sudanophilie auftritt, muß der Schluß gezogen werden, daß den *PAS-positiven Stoffen hauptsächlich Mucoder Glykoproteide* zugrunde liegen.

An sich wäre es wegen unserer an den Schwermetallgranulomen erhaltenen Befunden naheliegend, auch die *Basophilie* der Granula auf die Kohlenhydratkomponente zu beziehen und dann anzunehmen, daß es sich um ein *saures Mucopolysaccharid handelt*. Da sich die Methylenblau-bindefähigkeit der Körnchen sogar bis pH 2,5 verfolgen läßt, könnte man sogar an das Vorliegen von Komplexen saurer Mucopolysaccharide, also von hochmolekularen Schwefelsäureestern denken. Demgegenüber wissen wir (vgl. S. 523), daß sich die gespeicherte Kieselsäure ebenfalls in dieser Granula befindet, und es ist daher sehr wahrscheinlich, daß die sauren Eigenschaften der Granula an die Kieselsäure gebunden sind. Da weiterhin die Kieselsäure mit den Mucopolysacchariden chemisch zu reagieren vermag (HOLZAPFEL), nehmen wir an, daß die Basophilie auf einen *hochmolekularen Kieselsäureester, also eine Mucopolysaccharidkiesel-säure*, zurückzuführen ist.

Diese Auffassung läßt sich durch die Färbung der veraschten Schnitte bestätigen. Die nach der Zerstörung und Entfernung der organischen

Substanz zurückbleibenden Granula der Phagocyten sind nach wie vor basophil und metachromatisch anfärbar. Da organische Stoffe für diese Farbreaktionen der Asche nicht verantwortlich sein können, muß die Acidität an die auf dem Objektträger zurückgebliebene Kieselsäure gebunden sein.

Ob neben den Mucopolysaccharidkieselsäureverbindungen noch Mucopolysaccharidschwefelsäuren in den Granula vorkommen, können wir anhand unserer Experimente nicht entscheiden. Es gelingt nämlich nicht, die Kieselsäure ohne Zerstörung des Gewebes aus dem Schnitt zu entfernen, so wie es etwa möglich ist, aus den Schwermetallgranulomen die Schwermetallkationen zu extrahieren.

Schließlich haben wir mit *Sudanfarbstoffen* in der Granula einen *Fettbaustein* gefunden. Über seine weiteren chemischen Eigenschaften können wir keine Aussagen machen, da es nicht möglich ist, diese Lipide an einem kieselsäurefreien Schnitt zu untersuchen. Auf Grund der Befunde von HOLZAPFEL müssen wir damit rechnen, daß auch diese Fettstoffe mit der Kieselsäure reagiert haben, daß also in den Granula auch Lipid-Kieselsäureverbindungen vorliegen.

Bei allen Granulomen haben wir besonders auf die *organischen Zwischensubstanzen* geachtet. Dabei konnten wir weder eindeutige morphologische noch quantitative Beziehungen zwischen den reaktiv gebildeten intracellulären organischen Stoffen und den Intercellularsubstanzen nachweisen. Das Auftreten der intracellulären Polysaccharide steht in der Regel in keinem Verhältnis zu der Menge der gebildeten Zwischensubstanz. So finden wir z. B. in Granulomen mit großen kristallinen Fremdkörpern sehr reichlich hyalines und kollagenes Material, ohne daß im Cytoplasma der Granulomzellen nennenswerte Mucopolysaccharide vorhanden wären. Außerdem haben wir mit unseren Methoden keine Ausscheidung von PAS-positiven Körnchen in die Zwischensubstanz beobachtet.

Weiterhin sind die intracellulären Polysaccharide im Gegensatz zu den extracellulären ausgesprochen basophil und reich an Kieselsäure. In der kollagenen, bzw. hyalinen Zwischensubstanz haben wir demgegenüber mit der Methode der Schnittveraschung nicht nennenswert Kieselsäure nachweisen können.

## *II. Mit welcher Geschwindigkeit werden die organischen Stoffe gebildet?*

Genau wie bei den Versuchen mit den Schwermetallverbindungen [GEDIGK und STRAUSS (1—3); GEDIGK und PROCH] haben wir gefunden, daß die Reaktionsfähigkeit der Zellen sehr wesentlich von der Teilchengröße der abgelagerten Fremdstoffe abhängt. So erfolgte die Bildung der Mucopolysaccharide und Lipide nach der Injektion

von kolloider, amorpher Kieselsäure am schnellsten. Bei den Quarzpräparaten verlief diese Zellreaktion erheblich langsamer: Nach der Verabfolgung des feinpulverigen Quarzes traten die organischen Substanzen nur wenig später auf als in den Kieselsäuregranulomen. Bei dem mittelkörnigen Quarz dauerte die Bildung der Mucopolysaccharide und Lipide schon sehr viel länger, und bei dem sehr groben Quarz (mit einer Teilchengröße von über  $5 \mu$ ) war bei der Dauer unserer Versuche (1 Jahr) überhaupt keine nennenswerte Mucopolysaccharidbildung nachweisbar. Auch nach der Implantation von größeren Talkumkristallen (über  $5 \mu$ ), eines Magnesiumsalzes der Kieselsäure, setzte die Mucopolysaccharidbildung sehr langsam ein.

Systematische Versuche mit verschiedenen Modifikationen der Kieselsäure, die sich bei gleicher Teilchengröße nur durch ihren Kristallaufbau voneinander unterscheiden, haben wir nicht durchgeführt.

### *III. Welche morphologischen Beziehungen bestehen zwischen Siliciumdioxydablagerungen und den in Phagocyten auftretenden organischen Stoffen?*

*Die kristallinen Fremdkörper (Quarz)* liegen in der Regel in Zellen, deren Cytoplasma sehr reichlich PAS-positive Körnchen und Schollen enthält. Diese Kristalle werden von den organischen Stoffen umgeben und gewissermaßen gegen die Umgebung abgeschirmt.

Wie bereits betont, ließen sich jedoch nicht in allen quarzverarbeitenden Zellen PAS-positive Stoffe nachweisen. Wir führen das darauf zurück, daß die Quarzkristalle noch nicht lange genug in den betreffenden Zellen lagen. Es muß nämlich damit gerechnet werden, daß nicht alle Fremdkörper gleichzeitig phagocytiert, sondern von den neugebildeten, bzw. in das Granulom eingewanderten Zellen nacheinander aufgenommen werden. Da weiterhin die reaktive Bildung organischer Substanzen bei der Injektion von Quarz erheblich länger dauert als bei der Verabfolgung kolloidaler Kieselsäure oder kolloidaler Metallhydroxydlösungen, ist es verständlich, daß selbst in alten Granulomen noch nicht alle Makrophagen PAS-positive Stoffe enthalten.

Dagegen finden sich bei der Injektion der *kolloidalen Kieselsäure* die Mucopolysaccharide und Lipide genau an der Stelle des sauren Fremdkörpers. Diese Feststellung beruht auf zwei Beobachtungen:

Erstens kann mit der Methode der Schnittveraschung gezeigt werden, daß die Größe, die Zahl und die Verteilung der PAS-Granula in den Zellen fast völlig mit den nach der Veraschung zurückbleibenden Kieselsäurepartikeln übereinstimmen (Abb. 5 und 8).

Zweitens sahen wir an den nicht veraschten Schnitten, daß sich die mit Toluidinblau metachromatisch gefärbten Kieselsäureablagerungen

genau an den Stellen des Cytoplasmas befinden, welche nach der Entfärbung eine positive Perjodsäure-Schiff-Reaktion geben (Abb. 6).

Auf Grund dieser Befunde nehmen wir an, daß sich die kolloidale Kieselsäure — ähnlich wie wir es bei den Schwermetallverbindungen gesehen haben — in den organischen Stoffen gelöst hat, die gewissermaßen als Trägersubstanz für den gespeicherten anorganischen Fremdkörper dienen. Dabei ist es entweder zu einer Adsorption der Kieselsäure an die Trägersubstanz gekommen oder es liegt eine echte chemische Bindung zwischen der Kieselsäure und den organischen Stoffen, wie z. B. ein Mucopolysaccharidkieselsäureester, vor (Schema).

#### *IV. Woher kommen die organischen Bestandteile der Trägersubstanz?*

In unserer früheren Mitteilung (GEDIGK und PROCH) hatten wir bereits zu der Frage nach der Herkunft der Trägersubstanz Stellung genommen. Wir waren auf Grund unserer Beobachtungen bei der Bildung des Hämosiderins und anderer Schwermetallpigmente zu dem Schluß gekommen, daß es sich bei diesen organischen Substanzen nicht um Abbauprodukte von Blutbestandteilen oder um gemeinsam mit dem organischen Fremdkörper phagocytierte Schlacken des Gewebes, sondern um Stoffwechselprodukte der Mesenchymzellen selbst handelt. Die Experimente von SCHMIDT-MATTHIESSEN machten es nun wahrscheinlich oder lassen es zumindest möglich erscheinen, daß die Siliciumdioxydderivate schon extracellulär verschiedene Stoffe, wie Eiweißkörper und Mucopolysaccharide, adsorbieren und auch ohne die direkte Vermittlung von Zellen mit ihnen chemisch reagieren. Man muß daher damit rechnen, daß nicht nur reines Siliciumdioxyd, sondern auch Siliciumdioxyd-Eiweiß- oder Kohlenhydratkomplexe von den Zellen aufgenommen werden könnten.

Auf Grund dieser Befunde wäre es also denkbar, daß ein Teil der Trägersubstanz aus diesen schon extracellulär chemisch oder adsorptiv an die Kieselsäure gebundenen organischen Verbindungen aufgebaut wäre; es ist aber von vornherein wenig wahrscheinlich. Folgende Gründe lassen sich für diese Auffassung anführen:

Erstens finden wir in den Anfangsstadien der Granulome intracelluläre Kieselsäureablagerungen, die in keine polysaccharidhaltige organische Substanz eingebettet sind und offenbar keine organischen Stoffe adsorbiert haben. Die Trägersubstanz entsteht hier erst im Laufe der Zeit innerhalb des Cytoplasmas, sie wird also von den Zellen gebildet.

Zweitens treten die PAS-positiven Stoffe häufig zunächst diffus in den Phagocyten auf und werden erst allmählich zu Körnchen umgeprägt. Die eventuell schon extracellulär adsorbierten organischen Stoffe müßten bei diesen Verlagerungen von den Zellenzymen angegriffen und umgebaut

werden; ihre Abbauprodukte könnten dann vielleicht als Baustoffe für die Bildung der zelleigenen Trägersubstanz dienen. Daß aber zellfremde Stoffe unverändert in das Cytoplasma eingebaut werden und dort sogar eine bestimmte funktionelle Aufgabe übernehmen, würde der allgemeinen biologischen Erfahrung widersprechen.

Drittens finden wir Mucopolysaccharide auch in der Umgebung von kristallinen Fremdkörpern. Hier muß es zu einer intracellulären Bildung der organischen Stoffe gekommen sein, denn eine extracelluläre Adsorption kann von vornherein auf Grund des morphologischen Bildes ausgeschlossen werden.

Schließlich sind die Exsudatmassen, die in den Granulomen zwischen den Kieselsäure- und Quarzpartikeln liegen, häufig nur schwach PAS-positiv, während die Trägersubstanz geradezu selektiv mit der Perjodsäure-Schiff-Technik dargestellt werden kann. Es bestehen also auch histochemische Unterschiede zwischen den extracellulär im Exsudat mit der Kieselsäure auftretenden Stoffen und der intracellulären Trägersubstanz.

Wir kommen somit auch anhand unserer neueren Beobachtungen an den Siliciumdioxydgranulomen zu dem Schluß, daß *die Trägersubstanz ein Zellprodukt darstellt*. Dabei besteht allerdings die Möglichkeit, daß die Zelle als Baustoffe für die Trägersubstanz neben anderen Stoffwechselprodukten u. a. auch Substanzen verwendet, die extracellulär an den Fremdkörper adsorbiert waren.

#### V.

Bei einem Vergleich dieser Ergebnisse mit den Befunden, die wir bei der intracellulären Verarbeitung von Schwermetallverbindungen erhoben haben, fällt die weitgehende *histochemische Übereinstimmung zwischen den Granula in den Siliciumdioxydgranulomen und der Trägersubstanz der Schwermetallpigmente* ins Auge. In beiden Fällen lassen sich in den phagocytierenden Zellen Proteine, Polysaccharide und in wechselnder Menge auch Lipide nachweisen. Und in beiden Granulomarten, in den Siliciumdioxyd- wie in den Metalloxydablagerungen, finden sich enge morphologische Beziehungen zwischen diesen organischen Substanzen und den phagocytierten anorganischen Fremdkörpern. Die organischen Stoffe treten entweder genau an den Stellen des Cytoplasmas in Erscheinung, an denen auch die phagocytierten anorganischen Substanzen nachweisbar sind, oder aber sie finden sich — z. B. bei größeren Kristallen — in der unmittelbaren Umgebung der Fremdkörper.

Außer dieser engen morphologischen Beziehung bestehen auch chemische Wechselwirkungen zwischen den phagocytierten anorganischen Verbindungen und dem organischen Reaktionsprodukt der Zellen. Bei den Schwermetalloxydgranulomen war es möglich, die Metallkationen durch

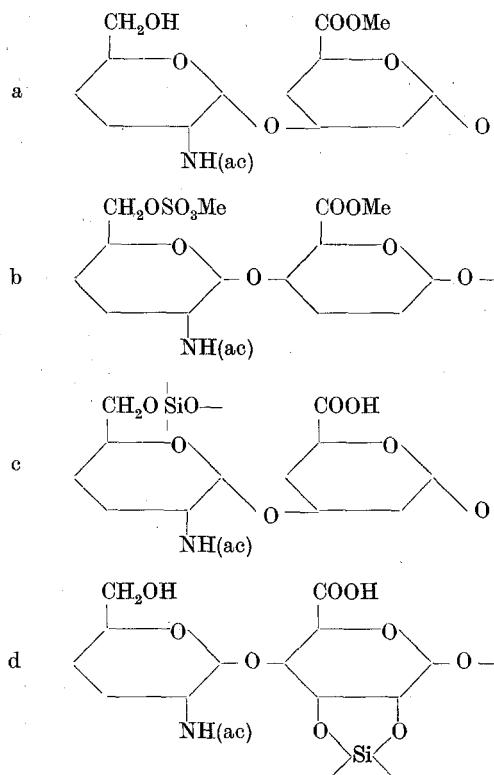
Säureextraktion aus dem Gewebe zu entfernen. Die freie organische, basophile Trägersubstanz besaß dann eine ausgesprochene Affinität für andere Schwermetallverbindungen: Es gelang, die eisenfreie Trägersubstanz des Eisenpigmentes mit einer kolloidalen Bleilösung zu beladen und somit das Eisenpigment im histologischen Schnitt in ein „Bleipigment“ umzuwandeln. In entsprechender Weise besaß z. B. die Trägersubstanz des Aluminium- oder des Silberpigmentes eine ausgesprochene Affinität für Eisenhydroxyd. Der metallfreie Restkörper dieser Pigmente konnte ohne weiteres mit Eisenhydroxyd beladen werden.

Bei den Kieselsäuregranolomen war eine derartige Entladung und erneute Beladung der organischen Trägersubstanz nicht möglich, weil sich die Siliciumdioxyderivate nicht aus dem histologischen Schnitt extrahieren lassen. Da sich aber die gelöste Kieselsäure im Cytoplasma genau dort befindet, wo auch Polysaccharide nachweisbar sind, ist es naheliegend, eine chemische Bindung auch dieses sauren Fremdkörpers an die Trägersubstanz anzunehmen. Diese Auffassung findet in den bereits erwähnten Untersuchungen von HOLZAPFEL und Mitarbeitern eine Stütze, welche über die Reaktionsfähigkeit der Kieselsäure mit Mucopolysacchariden berichtet haben. Von diesen Autoren ist gezeigt worden, daß auch die Kieselsäure in mehrfacher Weise mit dem Polysaccharid in Wechselwirkung treten kann, und zwar vermag sie mit allen Hydroxylgruppen des Kohlenhydrates, die keine sterische Behinderung zeigen, unter Esterbildung zu reagieren. Darüber hinaus ist von HOLZAPFEL auch auf die Reaktionsfähigkeit der Kieselsäure mit verschiedenen Lipiden hingewiesen worden.

Unter Berücksichtigung unserer älteren und neueren Experimente vermuten wir daher, daß die Trägersubstanz mit den anorganischen Fremdkörpern unter der Bildung von Salzen und Estern reagiert (vergl. nachstehendes Schema). Die anorganischen Stoffe werden dadurch offenbar gebunden bzw. gewissermaßen neutralisiert. Die Bildung von Mucopolysacchariden bei der Verarbeitung schwer resorbierbarer anorganischer Fremdkörper würde somit eine Art Abwehrleistung der ortsständigen Mesenchymzellen darstellen.

Auf den ersten Blick ist überraschend, daß eine solche Vielfalt von sauren und basischen anorganischen Stoffen stets zu einer in den Grundzügen gleichartigen Reaktion der phagozytierenden Zellen, nämlich zur Produktion von Mucopolysacchariden führt. Zweifellos liegt darin eine gewisse Einförmigkeit in der Reaktionsweise der Zellelemente.

Streng genommen stellt diese Feststellung jedoch nichts grundsätzlich Neues dar, wissen wir doch, daß der Organismus auch sonst bei sehr mannigfaltigen Reizen oft in prinzipiell gleichartiger Weise reagiert. So stehen z. B. auch bei den entzündlichen Reaktionen oder bei den



Schema. a, b Möglichkeiten der Bindung von basischen Fremdkörpern (Me Metallkationen) an Mucopolysaccharide. c, d Möglichkeiten der Bindung von Siliciumdifoxydderivaten (Si) an Mucopolysaccharide

regressiven Veränderungen einer fast unendlichen Vielfalt von schädigenden Reizen nur verhältnismäßig wenige Arten der Reizbeantwortung gegenüber. Der Organismus verfügt also offenbar — auch bei sehr verschiedenartigen Reizen — nur über wenige, auf bestimmte Grundvorgänge zurückführbare Reaktionsmöglichkeiten. „Er ist sozusagen gezwungen, auf ganz verschiedene Anfragen die gleichen Antworten zu geben“ (HAMPERL).

So hat es den Anschein, daß sich die Zellelemente in Fremdkörpergranulationsgeweben hauptsächlich in zweifacher Hinsicht mit den jeweiligen Fremdkörpern auseinandersetzen: Sie vermögen — wie wir seit langem wissen — erstens Fermente zu produzieren, welche unter Umständen eine Auflösung und Resorption der abgelagerten Stoffe bewirken und leisten dabei gewissermaßen eine Art „Verdauungsarbeit“. Darüber hinaus haben sie aber offenbar die Fähigkeit organische Stoffe, und zwar hauptsächlich Mucopolysaccharide zu bilden, welche die nicht abzubauenden Fremdkörper chemisch binden und somit offenbar unschädlich machen.

### Zusammenfassung

Die Ablagerung von Siliciumdioxydverbindungen im subcutanen Gewebe, in der Lunge und im Peritoneum führt zu einer Bildung von organischen Stoffen, wie Mucopolysacchariden, Proteinen und Lipiden, durch die ortsständigen Zellen.

Bei der intracellulären Speicherung von amorpher, kolloidaler Kiesel-säure finden sich diese organischen Substanzen genau an der Stelle der Siliciumdioxydablagerungen und dienen — genau wie wir es in Metalloxydgranulomen beobachtet haben — offenbar als Trägersubstanz für das saure Oxyd. Wir vermuten, daß die Kiesel-säure esterartig an die Mucopolysaccharide gebunden ist.

In Quarzgranulomen erfolgt die Bildung der organischen Substanzen in geringerem Umfang und wesentlich langsamer. Die reaktiv gebildeten organischen Stoffe treten hier intracellulär in der Umgebung der phagocytierten Fremdkörper als homogene Massen oder als feine Körnchen auf. Abhängig ist die Zellreaktion hauptsächlich von der Größe der Quarzkristalle. Je kleiner die Fremdkörper sind, um so schneller werden die Mucopolysaccharide usw. gebildet.

Morphologisch und histochemisch besteht eine weitgehende Übereinstimmung zwischen der organischen Trägersubstanz der Schwermetallpigmente und den in den Siliciumdioxydgranulomen gebildeten organischen Stoffen. In beiden Granulomarten, bei den Siliciumdioxyd- wie bei den Metalloxydablagerungen, werden neben Proteinen und Lipiden hauptsächlich Mucopolysaccharide gebildet.

Wir sind zu der Ansicht gelangt, daß die Trägersubstanz ein Produkt der phagocytierenden Zellen darstellt und sehen in der Bildung dieser organischen Stoffe eine Art von Abwehrleistung der Mesenchymzellen gegen Fremdstoffe.

### Literatur

- BAGINSKY, ST.: Z. Mikrosk. **55**, 241 (1938). — CURRAN, R. C.: J. of Path. **66**, 271 (1953). — GEDIGK, P.: (1) Verh. dtsch. Ges. Path. **1955**, 206. — (2) Histochemische Methoden. In Biochemisches Taschenbuch. Berlin: Springer 1956, — GEDIGK, P., u. W. PROCH: Beitr. path. Anat., **116**, 124 (1956). — GEDIGK, P., u. G. STRAUSS: (1) Verh. dtsch. Ges. Path. **1953**, 240. — (2) Virchows Arch. **324**, 373 (1953). — (3) Virchows Arch. **326**, 172 (1954). — HACKMANN, CHR.: Virchows Arch. **290**, 749 (1933). — HAMPERL, H.: Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie. Berlin: Springer 1954. — HERRMANN, F.: Z. Mikrosk. **49**, 313 (1932). — HINTZSCHE, E.: Erg. Anat. **32**, 63 (1938). — HOLZAPFEL, L.: (1) Z. angew. Chem. **60**, 96 (1948). — (2) Beitr. Silikoseforsch. **1952**, H. 15. — (3) Z. Elektrochem. **57** (1953). — (4) Die Staublungenerkrankungen, Bd. 2. Darmstadt: Dietrich Steinkopff 1954. — HOLZAPFEL, L., W. ENGEL u. P. FAHRENLAENDER: Kolloid-Z. **115**, 140 (1949). — NEU, H.: Beitr. Silikoseforsch. **1951**, H. 13, 17. — POLICARD, A., u. H. OKKELS: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden von E. ABDERHALDEN, Bd. 5, S. 1815. 1932. — SCHMIDT-MATTHIESEN, H.: Virchows Arch. **327**, 419 (1955). — SCHULTZ-BRAUNS, O.: Z. Mikrosk. **48**, 161 (1931). — Verh. dtsch. Ges. Path. **1931**, 153. — SCOTT, C. H.: Protoplasma (Berl.) **20**, 133 (1934).