

Aus dem Pathologischen Institut der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. W. SANDRITTER)

Morphologische und physikalisch-optische Untersuchungen an Achilles- und Patellarsehnen*

G. BENEKE und O. ENDRES

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Juli 1965)

Die Untersuchungen, die sich mit der Pathologie degenerativer Erkrankungen des Sehnengewebes befassen, sind nicht zahlreich (VON ALBERTINI; PENDL). Im wesentlichen werden in der Literatur die Sehnenverfettung, die amyloide und hyaline Entartung, die Pigmentablagerung, die Verkalkung und die schleimige Entartung (Ganglien) beschrieben. Fast alle bisherigen systematischen Untersuchungen über Degenerationen des Sehnengewebes wurden methodisch mit konventionellen histologischen Färbungen vorgenommen. Während Kalk-, Lipid- und Pigmentablagerungen im Sehnengewebe mikroskopisch relativ leicht und sicher erfaßbar sind, entziehen sich dezente Eiweißablagerungen im Sehnengewebe weitgehend dem morphologischen Nachweis. Solche Eiweißablagerungen können aber aufgrund ihrer unterschiedlichen chemischen Zusammensetzung erfaßt werden. Kollageneiweiß enthält nämlich kein Tryptophan und nur Spuren von Tyrosin. Diese beiden Aminosäuren kommen jedoch in den Mucopolysaccharid-Protein-Komplexen der Grundsubstanz und den Blutplasmaeiweißkörpern in relativ reichlicher Menge vor.

Mit der vorliegenden Untersuchung sollte daher festgestellt werden, ob mit zunehmendem Alter und bei Erkrankungen des Bindegewebes vermehrt tyrosin- und tryptophanhaltige Eiweißkörper im Sehnengewebe nachweisbar sind. Dieser Nachweis wurde mit drei verschiedenen Methoden geführt:

1. Durch die Messung der *Ultraviolettabsorption*, da Tyrosin und Tryptophan im ultravioletten Licht in gewissen Grenzen vom pH-Wert der Meßlösung abhängiges Absorptionsmaximum haben (SANDRITTER).
2. Durch den Nachweis von Tyrosin und Tryptophan mit *histochemischen Reaktionen* im Gewebsschnitt und
3. durch die üblichen *histologischen Färbemethoden*. Erwartungsgemäß werden jedoch hiermit nur massive Eiweißablagerungen nachweisbar sein.

Material und Methodik

Das Sehnengewebe wurde von 55 Leichen aus dem laufenden Sektionsgut entnommen.

1. Aufarbeitung der Sehnen für die Absorptionsmessungen

Insgesamt 115 verschiedene Patellar- und Achillessehnen wurden von den 55 Leichen physikalisch-optisch untersucht. Dieses Untersuchungsmaterial zeigt die Altersverteilung in Tabelle 1.

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Das frische Sehnengewebe wurde vom Fettgewebe freipräpariert, in kleine Stücke geschnitten und im Brutschrank bei 37° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Genau abgewogene Stücke getrockneten Sehnengewebes wurden in 5 ml saurer 0,5%iger Pepsinlösung (pH 1,26—25 mg Pepsin in 5 ml 0,2%iger Salzsäure) im Brutschrank bei 37° C verdaut. Die gewählte Pepsimenge war für getrocknetes Sehnengewebe von 0,1 g optimal geeignet, um in 48 Std eine vollständige Verdauung herbeizuführen. Die Lichtabsorption der zentrifugierten Sehnengewebe-Pepsin-Salzsäurelösung wurde gegen eine Pepsin-Salzsäurelösung als

Vergleichslösung gemessen. Die Messung erfolgte in Quarzkuvetten mit einer Schichtdicke von 0,1 cm im Spektralphotometer PMQ II (Zeiss).

Die Lichtabsorption der Kollagenlösung, gemessen gegen eine gleich zusammengesetzte Vergleichslösung ohne Sehnengewebe, ergibt den Extinktionswert E des Sehnengewebes. Diesen Sachverhalt gibt folgende Formel wieder:

$$E = \log \frac{J}{J_0},$$

wobei J = Lichtdurchlässigkeit der Meßlösung und J_0 = Lichtdurchlässigkeit der Vergleichslösung bedeuten. Die gemessene Extinktion ist von der Konzentration c [g/l] und der Schichtdicke d [cm] abhängig. Dadurch ergibt sich der spezifische Extinktionskoeffizient

$$\epsilon' = \frac{E}{c \cdot d}.$$

Der Extinktionskoeffizient, dargestellt in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ bzw. der Wellenzahl ν' , ermöglicht es, alle gemessenen Kurven miteinander zu vergleichen.

Zwischen der Wellenzahl ν' und der Wellenlänge λ besteht die Beziehung

$$\nu' = \frac{10\,000}{\lambda} [10^3 \text{ cm}^{-1}].$$

Wir ermittelten die spezifischen Extinktionskoeffizienten ϵ' in dem Wellenzahlbereich $\nu' 20 [10^3 \text{ cm}^{-1}]$ bis $\nu' 45 [10^3 \text{ cm}^{-1}]$ (Wellenlängenbereich $\lambda 500 \text{ nm}$ bis $\lambda 222 \text{ nm}$). Die gemessenen Extinktionskoeffizienten ϵ' sind Additionswerte. Sie bestehen aus der konsumptiven oder echten Absorption der zugrunde liegenden Eiweißlösung und der konservativen oder Scheinabsorption (Tyndall- oder Streulichtabsorption), die bei jeder kolloidalen Lösung auftritt. Die konsumptive Absorption lässt sich von der konservativen Absorption trennen. Dafür haben SCHRAMM und DANNENBERG sowie SCHAUENSTEIN u. Mitarb. ein Extrapolationsverfahren angegeben, dessen Anwendbarkeit für Eiweißlösungen von TREIBER und SCHAUENSTEIN, SCHAUENSTEIN und BAYZER bewiesen wurde.

Alle gemessenen Kurven wurden nach diesem Verfahren korrigiert und somit der Streulichtanteil an den Absorptionskurven eliminiert.

2. Aufarbeitung des Materials für die histochemischen Untersuchungen

Von den 115 entnommenen Sehnen wurde je ein 1 cm langes Sehnenstück in gepuffertem 4%igem neutralem Formalin nach LILLIE 24 Std fixiert und in Paraffin eingebettet. An Paraffinschnitten führten wir folgende Reaktionen durch:

- a) die Alcianblaufärbung nach STEEDMAN zum Nachweis von sauren Mucopolysacchariden,
- b) die Nitrosophenolreaktion nach GLENNER zum Nachweis von Tyrosin,
- c) die Millon-Reaktion in der Modifikation von RASH und SWIFT zum Nachweis von Tyrosin und
- d) die Dimethylaminobenzaldehydnitrit-Reaktion nach ADAMS zum Nachweis von Tryptophan.

Tabelle 1

Altersklasse in Jahren	Anzahl der	
	Autopsien	untersuchten Sehnen
0—1	7	14
1—10	6	12
11—20	1	2
21—30	2	4
31—40	3	6
41—50	3	6
51—60	12	28
61—70	8	16
71—80	11	23
81—90	2	4
Gesamt- zahl	55	115

3. Aufarbeitung des Materials für die konventionellen histologischen Färbeverfahren

An dem gleichen Material wurden

- a) die Hämalaun-Eosin-Färbung und
- b) die Modifikation der Massonschen Trichromfärbung nach GOLDNER durchgeführt.

Ergebnisse

Die meisten Aminosäuren absorbieren Licht im Wellenlängenbereich λ 240 nm bis λ 200 nm. Tyrosin und Tryptophan haben jedoch ein Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 280 nm und Phenylalanin bei der Wellenlänge λ 250 nm. Darüber hinaus zeigen die Eiweißkörper eine sog. „Gerüstabsorption“. Diese ist durch die Peptidbindungen und durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Peptidbindungen bedingt. Da Kollagenweiß kein Tryptophan und nur sehr wenig Tyrosin enthält, ist in seiner Lichtabsorptionskurve auch kein Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 280 nm zu erwarten. Die Untersuchungen zeigten jedoch, daß dies nur für einen Teil menschlicher Sehnen zutrifft.

Aufgrund des Kurvenverlaufes konnten wir drei Gruppen bilden:

1. Erwachsenensehnen ohne Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 280 nm (66 Fälle),
2. Erwachsenensehnen mit einem Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 280 nm (23 Fälle) sowie
3. Kindersehnen mit einem Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 260 nm (20 Fälle) bzw. bei der Wellenlänge λ 280 nm (6 Fälle).

1. Sehnengewebe des Erwachsenenalters ohne Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 280 nm

Die Mittelwertskurven der Patellar- und Achillessehnen der 4 Altersgruppen von über 21 Jahre alten Menschen (Abb. 1a—d und 2a—d; s. auch Abb. 8a und b) zeigen einen Verlauf, wie er der theoretischen Erwartung entspricht. Die Kurven steigen von der Wellenlänge λ 313 nm bis zur Wellenlänge λ 286 nm zunächst steil an. Zwischen den Wellenlängen λ 286 nm und λ 250 nm haben die Kurven der Altersgruppe 21—40jähriger Menschen ein gleichbleibendes Niveau. Ein gleichmäßiger geringer Anstieg der Lichtabsorption zwischen der Wellenlänge λ 286 nm und der Wellenlänge λ 250 nm ist in den Altersgruppen über 41jähriger Menschen zu verzeichnen. Zwischen der Wellenlänge λ 250 nm und der Wellenlänge λ 222 nm tritt bei allen Kurven ein erneuter steiler Anstieg der Lichtabsorption auf.

Mikroskopisch enthält die Erwachsenensehne relativ wenige Fibrocyten. Die reichlich vorhandenen kollagenen Fasern verlaufen vorwiegend gestreckt und nicht gewellt. Es entsteht der Eindruck eines syncytialen Faserverbandes. Zwischen den Fasern konnten wir mit der Alcianblaufärbung in geringer Menge freie Gruppen von sauren Mucopolysacchariden nachweisen. Mit histochemischen Methoden ergab sich kein Anhalt für die Ablagerung eines Nichtkollagenproteins. Die Massonsche Trichromfärbung nach GOLDNER, die die kollagenen Fasern grün anfärben soll, fiel bei allen Sehnen recht unterschiedlich aus. Diese Befunde waren nicht auszuwerten.

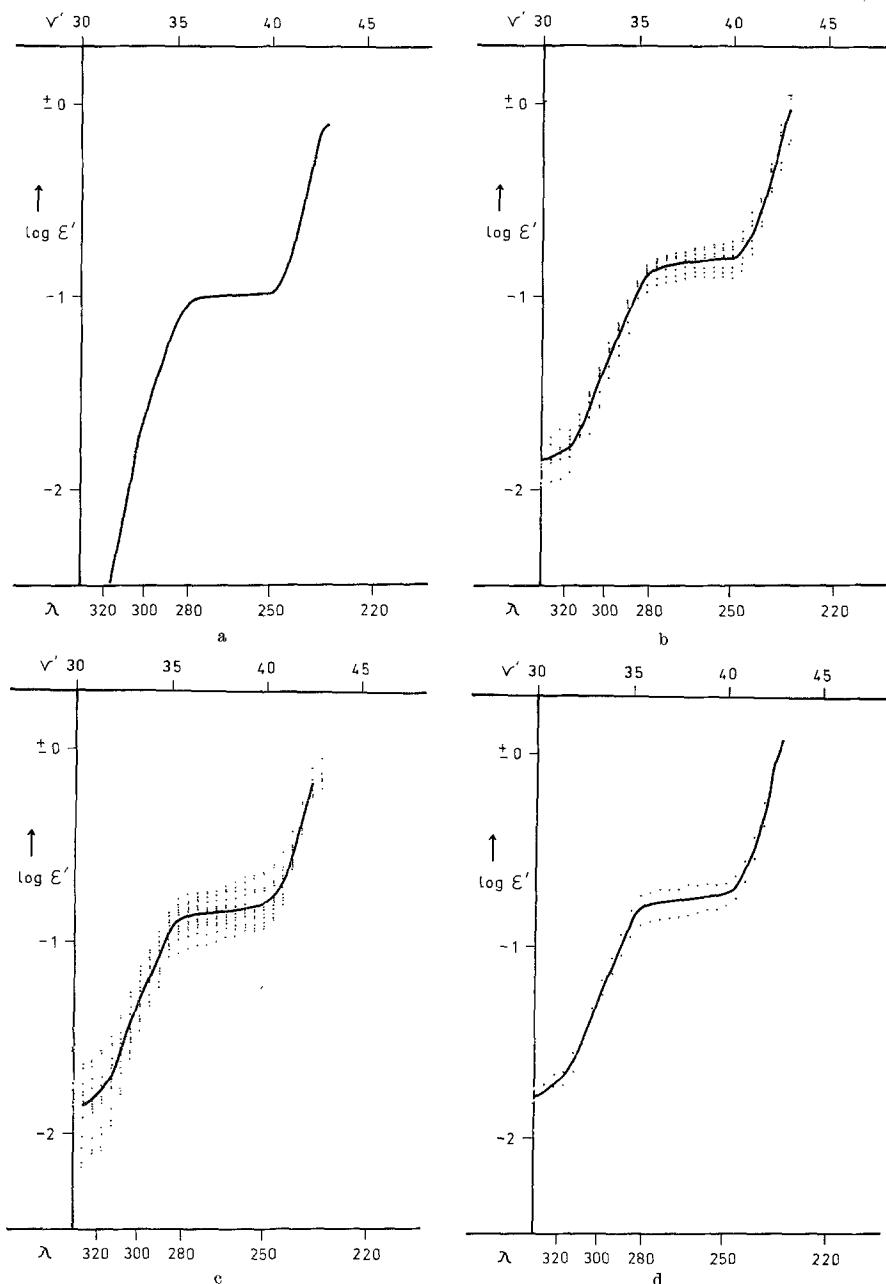


Abb. 1a—d. Getrennte Darstellung der für verschiedene Altersgruppen errechneten Mittelwertskurven der Ultraviolettabsorption normaler Patellarsehnen. a Altersgruppe 21—40 Jahre; b Altersgruppe 41—60 Jahre; c Altersgruppe 61—80 Jahre; d Altersgruppe über 81 Jahre

2. Sehnengewebe des Erwachsenenalters mit einem Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge $\lambda 280$ nm

Im Gegensatz zu den beschriebenen Erwachsenensehnen fanden wir durch die Absorptionsmessungen 23 Sehnen heraus, die ein deutliches Absorptions-

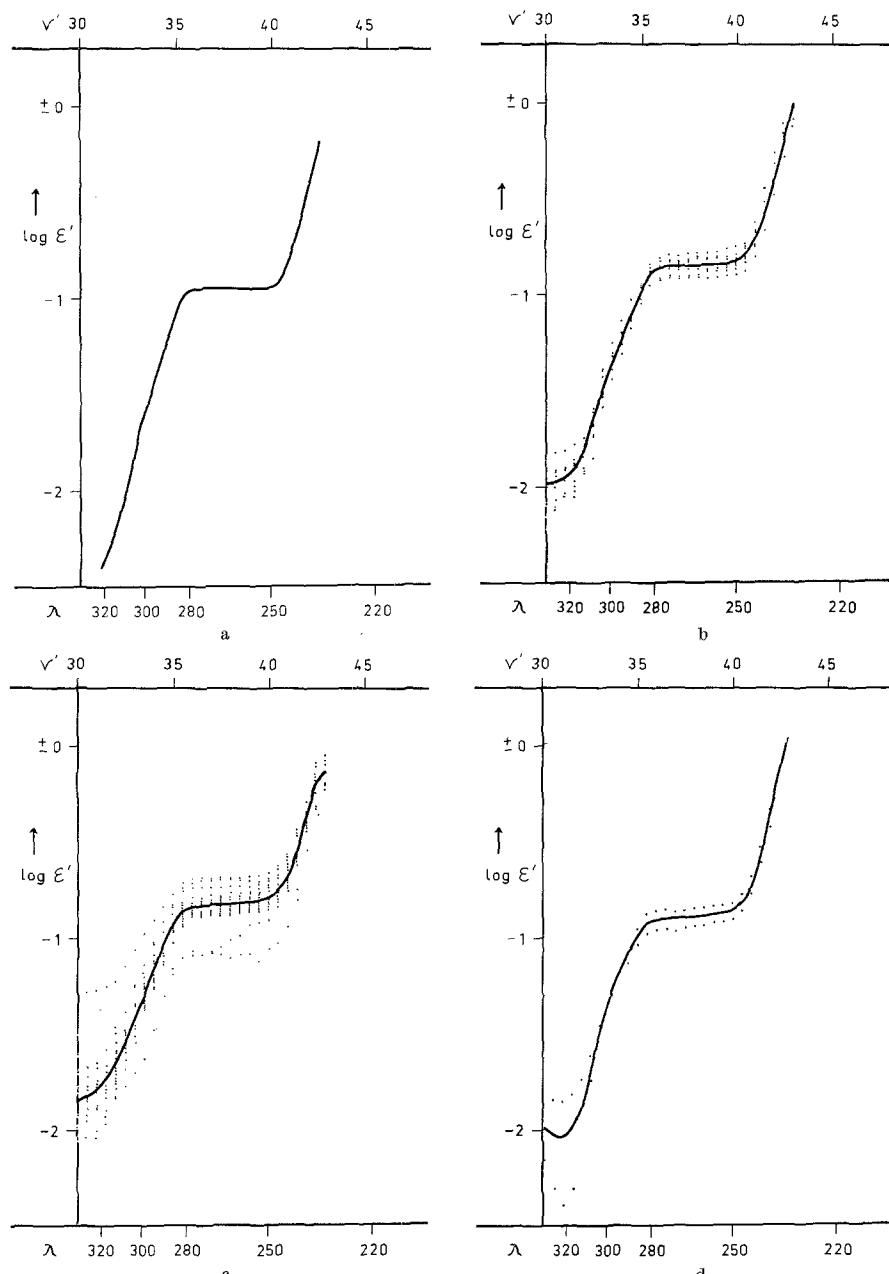


Abb. 2a—d. Getrennte Darstellung der für verschiedene Altersgruppen errechneten Mittelwertskurven der Ultraviolettsichtabsorption normaler Achillessehnen. a Altersgruppe 21—40 Jahre; b Altersgruppe 41—60 Jahre; c Altersgruppe 61—80 Jahre; d Altersgruppe über 81 Jahre

maximum und -minimum aufwiesen. Das Absorptionsmaximum trat bei der Wellenlänge λ 274 nm auf. Das Absorptionsminimum bildete sich meist bei der Wellenlänge λ 253 nm aus. Solche Kurven zeigen die Abb. 3a—c für Patellarsehnen und die Abb. 4a—d für Achillessehnen. Die Kurven sind nach dem Alter

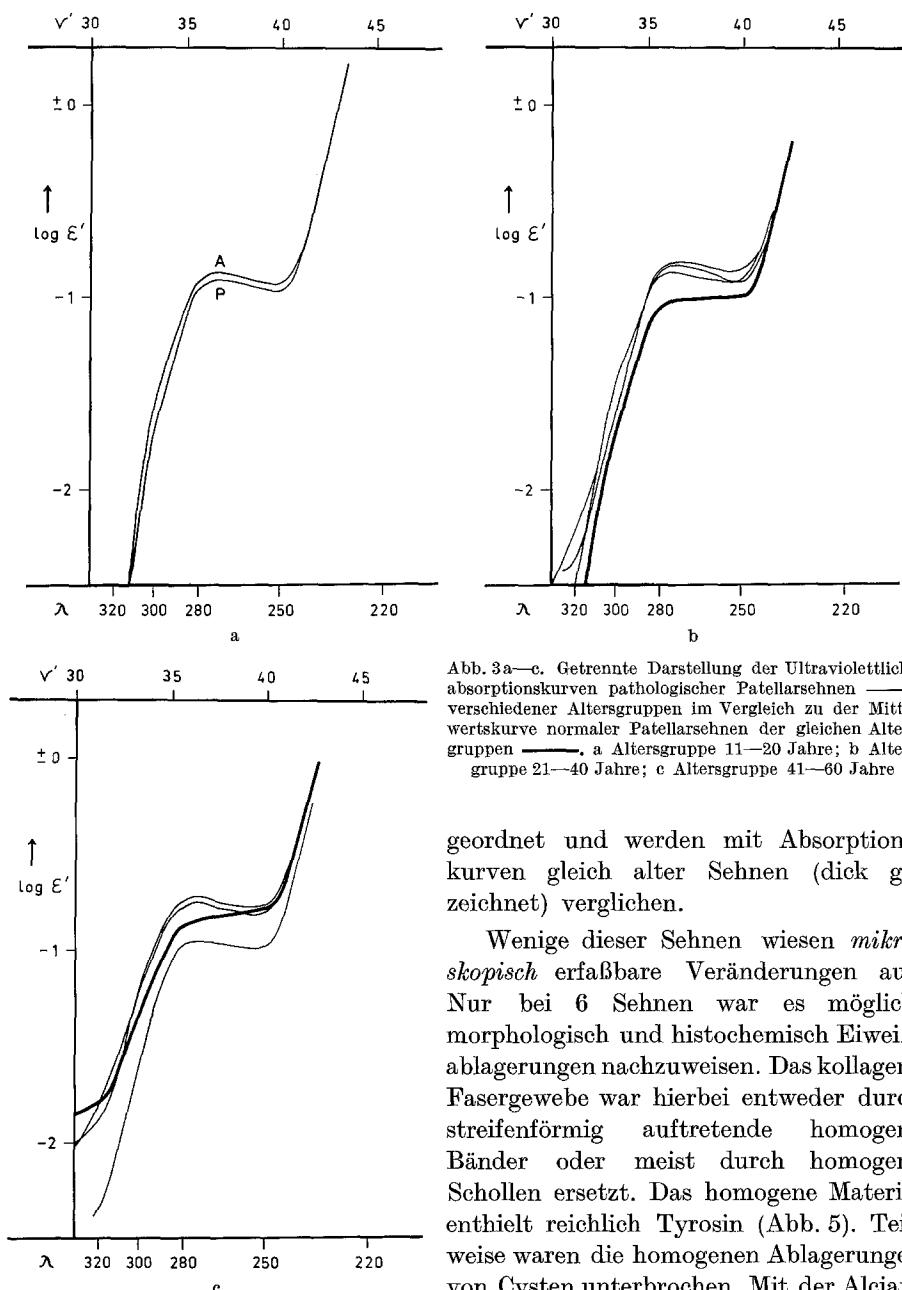


Abb. 3a-c. Getrennte Darstellung der Ultravioletlicht-absorptionskurven pathologischer Patellarsehnen _____ verschiedener Altersgruppen im Vergleich zu der Mittelwertskurve normaler Patellarsehnen der gleichen Altersgruppen _____. a Altersgruppe 11-20 Jahre; b Altersgruppe 21-40 Jahre; c Altersgruppe 41-60 Jahre

geordnet und werden mit Absorptionskurven gleich alter Sehnen (dick gezeichnet) verglichen.

Wenige dieser Sehnen wiesen *mikroskopisch* erfassbare Veränderungen auf. Nur bei 6 Sehnen war es möglich, morphologisch und histochemisch Eiweißablagerungen nachzuweisen. Das kollagene Fasergewebe war hierbei entweder durch streifenförmig auftretende homogene Bänder oder meist durch homogene Schollen ersetzt. Das homogene Material enthielt reichlich Tyrosin (Abb. 5). Teilweise waren die homogenen Ablagerungen von Cysten unterbrochen. Mit der Alcianblaufärbung ließen sich besonders am

Rande der Cysten saure Mucopolysaccharide nachweisen. In 6 anderen Sehnen waren mikroskopisch herdförmige Fibroblastenvermehrungen und in 4 hyalinisierte Arteriolen nachweisbar. 17 Sehnen dieser Gruppe zeigen jedoch weder mikroskopisch noch mit histochemischen Methoden Anzeichen für eine Eiweißablagerung.

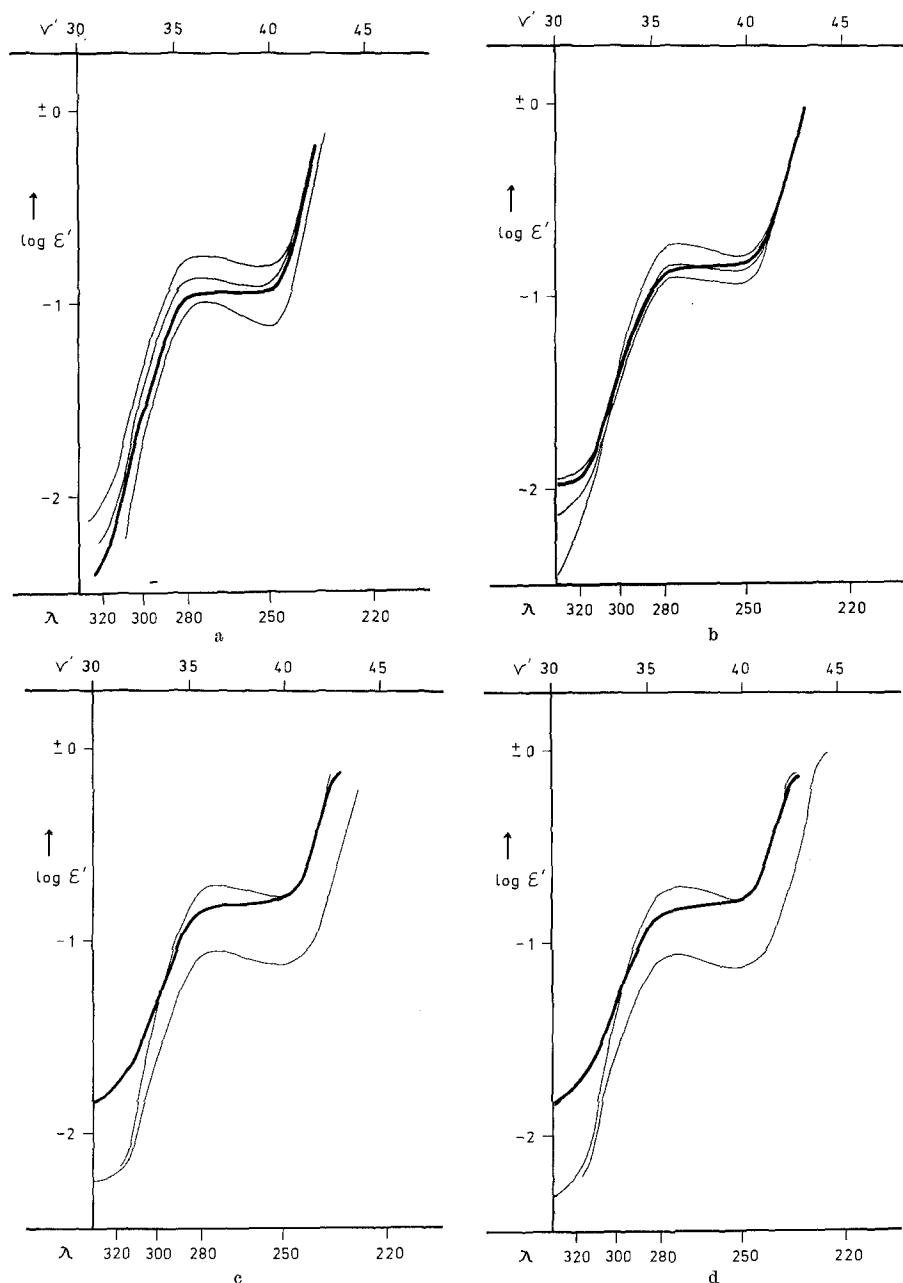


Abb. 4a—d. Getrennte Darstellung der Ultravioletlichtabsorptionskurven pathologischer Achillessehnen —— verschiedener Altersgruppen im Vergleich zu der Mittelwertskurve normaler Achillessehnen der gleichen Altersgruppen ——. a Altersgruppe 21—40 Jahre; b Altersgruppe 41—60 Jahre; c Altersgruppe 61—80 Jahre; d Altersgruppe über 81 Jahre

3. Sehnengewebe im Kindesalter

Die Absorptionskurven des Sehnengewebes von *Säuglingen* und *3 Kleinkindern* im Alter von $1\frac{1}{2}$, $2\frac{1}{2}$ und 3 Jahren (Abb. 6a, Patellarsehnen; Abb. 6b, Achilles-

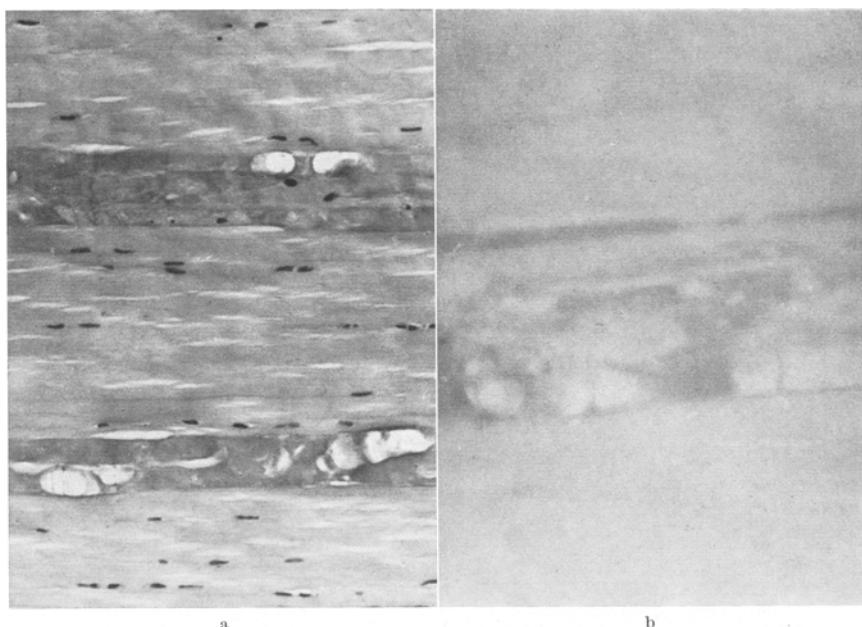


Abb. 5 a u. b. Pathologisch veränderte Achillessehne eines 71jährigen Mannes. a Bandartige Eiweißablagerungen. Hämalaun-Eosin-Färbung. Vergr. etwa 350fach. b Positive Nitrosophenolreaktion in den cystisch veränderten bandartigen Eiweißablagerungen. Kollagene Fasern nitrosophenolnegativ. Vergr. etwa 875fach

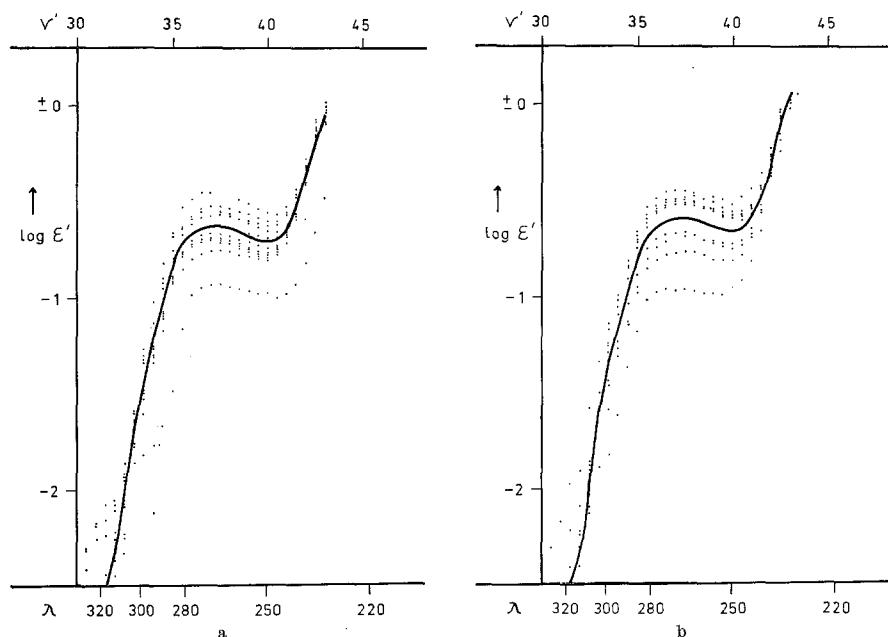


Abb. 6 a u. b. Darstellung der für Säuglinge und Kleinkinder bis zum Alter von 3 Jahren errechneten Mittelwertskurven der Ultraviolettabsorption. a Patellarsehnen; b Achillessehnen

sehnen) haben ein Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 267 nm. Das Absorptionsminimum tritt bei der Wellenlänge λ 250 nm auf.

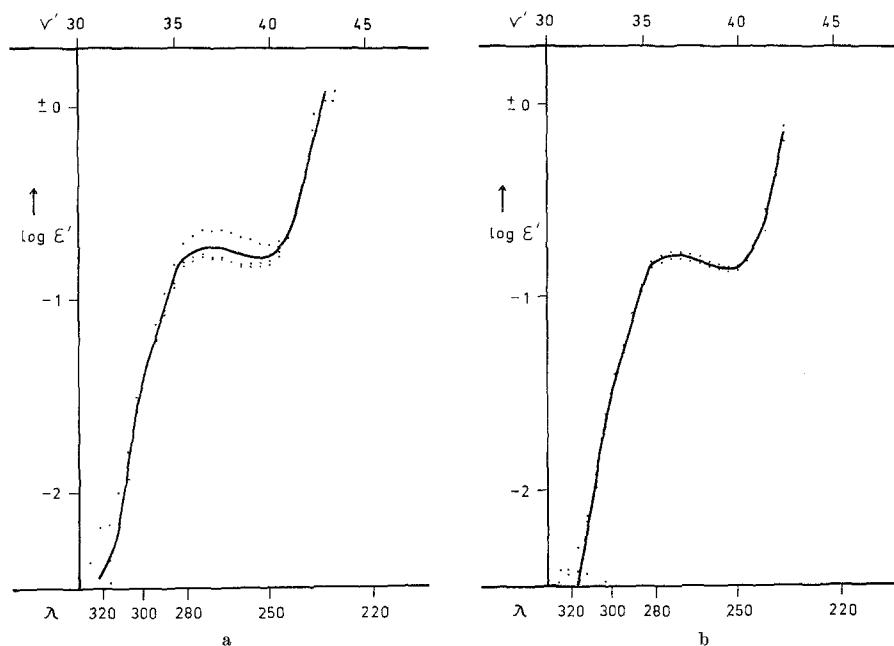


Abb. 7 a. u. b. Darstellung der errechneten Mittelwertskurven der Ultravioletlichtabsorption für Kinder im Alter von 5—10 Jahren. a Patellarsehnen; b Achillessehnen

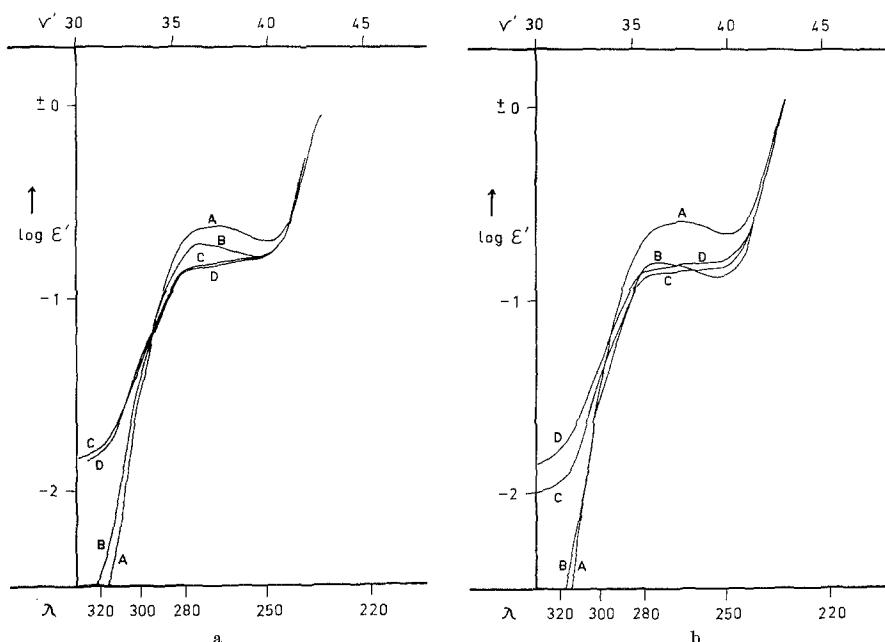


Abb. 8 a. u. b. Gleichzeitige Darstellung der Mittelwertskurven der Ultravioletlichtabsorption normaler Sehnen verschiedener Altersgruppen. A 0—5 Jahre, B 5—10 Jahre, C 41—60 Jahre, D 61—80 Jahre. a Patellarsehnen; b Achillessehnen

Mikroskopisch findet man in diesem Alter im Verhältnis zur Faserzahl ein recht zellreiches Sehnengewebe. Die Zellkerne sind vielfach oval. Die kollagenen

Fasern zeigen einen deutlich gewellten Verlauf. Zwischen den kollagenen Fasern finden sich reichlich freie Gruppen der sauren Mucopolysaccharide (Alcianblau-färbung). Histochemisch ergab sich kein Anhalt für Eiweißablagerungen nicht kollagener Art.

Bei älteren Kindern verschiebt sich das Absorptionsmaximum von der Wellenlänge λ 267 nm zu der Wellenlänge λ 274 nm (Abb. 7a, Patellarsehnen; Abb. 7b, Achillessehnen).

Die Lage der Absorptionsmaxima und -minima ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Die Verschiebung der Absorptionsmaxima und -minima mit zunehmendem Lebensalter in den langwelligen Bereich ist auch sehr gut in den Abb. 8a und b an den Kurven A und B zu erkennen.

Das Sehnengewebe der älteren Kinder zeigt mikro-

skopisch bereits relativ weniger Zellen als das der Säuglinge, aber mehr als die Sehnen Erwachsener. Die Sehnenfasern haben noch einen gewellten Verlauf. Die histochemisch nachweisbaren freien Gruppen der sauren Mucopolysaccharide sind jedoch gegenüber den Säuglingssehnen vermindert. Mit histochemischen Methoden ergab sich kein Anhalt für Ablagerungen eines Nichtkollagenproteins.

Diskussion

Wir gingen von der Vorstellung aus, daß sich im menschlichen Sehnengewebe Eiweißkörper nachweisen lassen, die vom Kollageneiweiß zu unterscheiden sind.

Kollageneiweiß enthält bekanntlich nur Spuren von Tyrosin und kein Tryptophan (GRASSMANN u. Mitarb.). Der geringe Tyrosingehalt soll sogar auf Verunreinigungen beruhen (KÜHN und ZIMMER), da Tropokollagenmoleküle nach enzymatischer Abspaltung des Tyrosins noch native Fasern bilden können. Demgegenüber haben aber andere Eiweißkörper einen relativ hohen Tyrosin- und Tryptophangehalt. Dies gilt sowohl für die *Blutplasmaeiweißkörper* wie auch für die Proteinkomponente der *Mucopolysaccharid-Protein-Komplexe*, die die Grundsubstanz des Bindegewebes bilden.

Da Tyrosin und Tryptophan ein genau definiertes Absorptionsmaximum im ultravioletten Licht haben, war es naheliegend, durch Absorptionsuntersuchungen Ablagerungen tyrosin- und tryptophanhaltiger Eiweißkörper im Sehnengewebe nachzuweisen. Dabei ergaben sich an den menschlichen Achilles- und Patellarsehnen drei Gruppen von Absorptionskurven:

1. Die Kurven normaler *Erwachsenensehnen* zeichnen sich dadurch aus, daß sie *kein Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 280 nm* haben. Mit zunehmendem Alter tritt jedoch ein deutlicher gleichmäßiger Anstieg der Kurvenstrecke zwischen der Wellenlänge λ 280 nm und der Wellenlänge λ 250 nm auf. Bei diesen Sehnen konnte ein tyrosin- und tryptophanhaltiger Eiweißkörper somit nicht nachgewiesen werden. Ähnliche Absorptionskurven beschrieben SCHAUENSTEIN

und STANKE (1, 2). Der Kurvenanstieg zwischen der Wellenlänge $\lambda 280$ nm und der Wellenlänge $\lambda 250$ nm läßt sich als „Zusatzabsorption“ der Eiweiße erklären (SCHAUENSTEIN). Diese Autoren begründen die Zusatzabsorption mit vermehrten Bindungen zwischen den Peptidketten, die zum Auftreten neuer Chromophoren führen.

Unsere Befunde sprechen ebenso wie frühere Untersuchungen von RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN für eine zunehmende Vernetzung der kollagenen Fasern im Sehnengewebe mit zunehmendem Alter, ohne daß es dabei zur Einlagerung anderer Eiweißkörper kommt.

Für das vermehrte Auftreten inter- und intramolekularer Bindungen mit zunehmendem Alter des Kollagens sprechen auch Untersuchungen über die Säurelöslichkeit des Kollagens und die mechanische Dehnbarkeit bzw. die thermisch bedingte Schrumpfung (Literaturübersicht s. VERZÁR). Solche inter- und intramolekularen Bindungen werden nur bei Verwendung sehr hoher Fermentkonzentrationen vollständig gespalten (KÜHN u. Mitarb.), so daß sie in unserem Untersuchungsmaterial mindestens noch teilweise vorliegen mußten.

Der kontinuierliche Anstieg der Absorptionskurven von Sehnenlösungen zwischen der Wellenlänge $\lambda 280$ nm und der Wellenlänge $\lambda 250$ nm ist somit als Ausdruck des *physiologischen Alterungsprozesses* menschlicher Sehnen anzusehen.

2. Die Kurven von 23 Erwachsenensehnen hatten im Vergleich zur vorigen Gruppe ein *deutliches Maximum bei der Wellenlänge $\lambda 280$ nm*. Interessant war, daß nur bei wenigen Fällen dieser Gruppe morphologisch faßbare Veränderungen zu sehen waren. Alle Absorptionskurven wichen aber deutlich von denen altersgleicher normaler Sehnen ab.

Wie ist das Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge $\lambda 280$ nm, das nicht der normalen Absorptionskurve des Sehnengewebes entspricht, zu erklären? ENDRES konnte nachweisen, daß bereits ein 64 mg-%iger Zusatz von Fibrinogen (tyrosin- und tryptophanhaltiger Eiweißkörper) zu Kollagenlösungen ein deutliches Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge $\lambda 280$ nm verursacht. Das Absorptionsmaximum bei den 23 Sehnen ist somit sicher durch die Einlagerung eines tyrosin- und tryptophanhaltigen Eiweißkörpers, der nicht normales Kollagen-eiweiß sein kann, bedingt. Die Untersuchungen von ENDRES zeigen weiterhin, daß mit dieser Methode bereits geringe Mengen solcher Eiweißkörper im Sehnengewebe nachweisbar sind. Ein Einbau von Tyrosin und Tryptophan konnte im Kollagen-eiweiß chemisch bisher nicht vermehrt nachgewiesen werden. Das Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge $\lambda 280$ nm muß also durch einen tyrosin- und tryptophanhaltigen Eiweißkörper in der interfibrillären Grundsubstanz verursacht sein.

Es könnte sich dabei um eine Vermehrung der Proteinkomponente des Mucopolysaccharid-Protein-Komplexes der Grundsubstanz handeln. An verschiedenen Bindegewebe- und Stützgeweben wurde bei Erkrankungen eine vermehrte Umsatzrate der Mucopolysaccharide gefunden (HAUSS u. Mitarb.; HILZ u. Mitarb.). Der Gehalt an Mucopolysacchariden scheint jedoch gegenüber dem Normalen nicht signifikant vermehrt zu sein (ANDERSON u. Mitarb.). Dagegen nehmen oftmals die histochemisch nachweisbaren freien Gruppen der Mucopolysaccharide zu. Inwieviel auch vermehrt Proteine gebildet werden, ist nicht bekannt. ANDERSON

u. Mitarb. konnten im degenerierten Gelenkknorpel keine Vermehrung des Nicht-kollageneiweißes finden.

Am wahrscheinlichsten ist es, daß die nachgewiesenen tyrosin- und tryptophanhaltigen Eiweißkörper Einlagerungen von Blutplasmaeiweißkörpern in die interfibrilläre Grundsubstanz sind, die durch Exsudation dorthin gelangten. Dafür würde auch sprechen, daß bei 5 der 16 Verstorbenen, denen diese 23 Sehnen entnommen worden waren, klinisch und pathologisch-anatomisch eindeutig eine zum rheumatischen Formenkreis gehörende Erkrankung nachgewiesen werden konnte. Die anderen Fälle verteilten sich allerdings auf die verschiedensten Grundkrankheiten. Somit läßt sich die Herkunft des Eiweißkörpers durch die vorliegenden Untersuchungen noch nicht eindeutig klären.

Wichtig erscheint uns aber die Feststellung, daß das Auftreten eines Absorptionsmaximums bei der Wellenlänge λ 280 nm im Erwachsenensehnengewebe keine Altersveränderung darstellt, sondern Ausdruck eines krankhaften Prozesses in der Sehne ist, der sich dem morphologischen Nachweis mit konventionellen Methoden oft entzieht.

3. Die *Säuglings- und Kleinkindersehnen* zeichneten sich durch ein Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 267 nm aus. Das Absorptionsminimum trat bei der Wellenlänge λ 250 nm auf. Dieses Absorptionsmaximum deutet auf das Vorliegen von Nucleinsäuren hin. Diese Annahme wird durch die histologischen Bilder erhärtet, da die Sehnen junger Kinder relativ viel Bindegewebsszellekerne im Verhältnis zu den vorhandenen kollagenen Fasern aufweisen. — Weitgehend identische Absorptionskurven erhielten RATZENHOFER und SCHAUENSTEIN am embryonalen undifferenzierten Kollagen, das sie „Prökollagen“ nannten. Als Untersuchungsmaterial verwandten diese Autoren Achillessehnen von menschlichen Embryonen im Alter von vier bis fünf Monaten.

Bei älteren Kindern verschob sich das Absorptionsmaximum zur Wellenlänge λ 274 nm und das Absorptionsminimum zur Wellenlänge λ 253 nm. Die Verschiebung des Absorptionsmaximums von der Wellenlänge λ 267 nm zu der Wellenlänge λ 274 nm kann verschiedene Ursachen haben. Wie die mikroskopischen Untersuchungen zeigten, nimmt die Zellkernzahl bereits mit etwa 3 Jahren ab, und die Menge der kollagenen Fasern vermehrt sich. Damit muß die Nucleinsäureabsorption, die durch die Zellkerne verursacht ist, abnehmen. Die Verschiebung des Maximums ist also durch eine relative Vermehrung eines tyrosin- und tryptophanhaltigen Eiweißkörpers bedingt. Unklar bleibt noch, in welchem Bestandteil der Intercellularsubstanz von Kindersehnen sich dieser Eiweißkörper befindet. Es sind bisher keine analytisch-chemischen Untersuchungen bekanntgeworden, die Anhaltspunkte für eine andere Aminosäurezusammensetzung des kindlichen Kollageneiweißes erbringen. Daher war daran zu denken, daß der in allen kindlichen Sehnen nachgewiesene tyrosin- und tryptophanhaltige Eiweißkörper Bestandteil des Mucopolysaccharid-Protein-Komplexes der Grundsubstanz ist. Gegen diese Vorstellung sprechen jedoch eigene Untersuchungen (bisher unveröffentlicht) an der Grundsubstanz von kindlichem Knorpelgewebe, in dem mit entsprechenden Methoden niemals tyrosin- und tryptophanhaltige Eiweißkörper in der Intercellularsubstanz kindlichen Knorpelgewebes nachgewiesen werden konnten. Am wahrscheinlichsten ist die Eiweißabsorption auf einen erhöhten Gehalt der kindlichen Sehnen an eiweißreicher interstitieller Flüssigkeit zurückzuführen (FLASCHENTRÄGER, ROLLHÄUSER sowie eigene Befunde).

Zusammenfassung

Von 115 menschlichen Achilles- und Patellarsehnen wurden nach fermentativer Verdauung Absorptionskurven im ultravioletten Licht aufgenommen und diese mit histologischen und histochemischen Untersuchungsbefunden von den gleichen Sehnen verglichen.

Die Absorptionskurven der Säuglingssehnen zeigen ein deutliches Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 260 nm, das durch Nucleinsäuren bedingt ist und sich auf den großen Zellreichtum der Säuglingssehnen zurückführen lässt.

Die physiologische Alterung des Sehnengewebes drückt sich durch einen kontinuierlichen Anstieg der Absorptionskurven zwischen der Wellenlänge λ 280 nm und der Wellenlänge λ 250 nm aus. Dieser gleichförmige Kurvenanstieg ist durch eine mit dem Alter zunehmende Vernetzung kollagener Fasern bedingt. Ein Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge λ 280 nm tritt nicht auf.

Das Auftreten eines Absorptionsmaximums bei der Wellenlänge λ 280 nm im Sehnengewebe des Erwachsenen spricht für echte krankhafte Sehnenveränderungen. Es ist bedingt durch die Einlagerung eines tyrosin- und tryptophanhaltigen Eiweißkörpers in die interfibrilläre Grundsubstanz. Bei einem Drittel dieser Fälle hatten die Träger dieser Sehnen eine zum rheumatischen Formenkreis gehörende Erkrankung. Nur bei 6 von 23 derartigen Sehnen waren die Eiweißablagerungen morphologisch und histochemisch erfaßbar.

Morphological and Physical-Optical Studies of Achilles' and Patellar Tendons

Summary

UV-absorption curves of 115 enzymatically digested human tendons were compared with the results of histological and histochemical studies of the same tendons.

The absorption curves of the tendons of young infants have a distinct absorption maximum at the wave length of λ 260 nm. This maximum is caused by nucleic acids since the tendons of young infants have more cells per unit volume than the tendons of adults.

Normal tendons of adults show no absorption maximum either at the wave length of λ 260 nm or at λ 280 nm. The ageing of the collagen fibers in normal tendons, however, leads to a continuous rise of the absorption curves (between the wave lengths λ 280 nm and λ 250 nm), brought about by an increase of the intermolecular linkages with age.

In a few tendons from adults an absorption maximum is found at the wave length of λ 280 nm, indicating a true pathologic change in the tendon. This maximum is caused by a deposition of protein into the ground substance between the collagen fibers. Since this protein contains large amounts of tyrosine and tryptophan, it cannot be collagen protein. In only 6 of 23 such tendons was this deposition of protein detectable with histological and histochemical methods. A third of these tendons with an absorption maximum at the wave length of λ 280 nm were from patients with a rheumatic disease.

Literatur

- ADAMS, C. W. M.: A p-dimethylaminobenzaldehydenitrite method for the histochemical demonstration of tryptophane and related compounds. J. clin. Path. **10**, 56—62 (1957).

- ALBERTINI, A. v.: Spezielle Pathologie der Sehnen, Sehnenscheiden und Schleimbeutel. In: F. HENKE u. O. LUBARSCH, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. IX/1, S. 508—609. Berlin: Springer 1929.
- ANDERSON, C. E., J. LUDOWIEG, H. A. HARPER, and E. P. ENGELMAN: The composition of the organic component of human articular cartilage. *J. Bone Jt Surg.* **46**, 1176—1183 (1964).
- ENDRES, O.: Morphologische, histochemische und physikalisch-optische Untersuchungen an menschlichen Sehnen. Inaug.-Diss. Univ. Gießen 1963.
- FLASCHENTRÄGER, B.: Die anorganischen und organischen Bau-, Betriebs- und Schlackenstoffe. In: B. FLASCHENTRÄGER u. E. LEHNARTZ, Physiologische Chemie, Bd. I, S. 173—175 u. 683—777. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951.
- GLENNER, G. G.: A nitrosophenol reaction for tyrosine and related compounds in tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.* **7**, 423—434 (1959).
- GRASSMANN, W., K. HANNIG u. M. SCHLEYER: On the amino acid sequence of collagen. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **322**, 71—95 (1960).
- HAUSS, W. H., G. JUNGE-HÜLSING, and H. J. HOLLÄNDER: Changes in metabolism of connective tissue associated with ageing and arterio-atherosclerosis. *J. Atheroscler. Res.* **2**, 50—61 (1962).
- HILZ, H., C. ERICH u. D. GLAUBERT: Veränderung von Zeldichte und Polysaccharidstoffwechsel im alternden Bindegewebe. *Klin. Wschr.* **41**, 332—335 (1963).
- KÜHN, K., P. FIETZEK u. J. KÜHN: Die Einwirkung von proteolytischen Enzymen auf unlösliches Kollagen. *Naturwissenschaften* **50**, 444—445 (1963).
- , u. E. ZIMMER: Eigenschaften des Tropokollagenmoleküls und deren Bedeutung für die Fibrillenbildung. *Z. Naturforsch.* **16b**, 648—658 (1961).
- LILLIE, R. D.: Histopathologic technic and practical histochemistry. New York-Toronto-London: Blakiston Co. Inc. 1954.
- PENDL, O.: Die Weichteile des Bewegungsapparates. In: E. KAUFMANN u. M. STAEMMLER, Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, Bd. II, Teil 4, 8. Lief. Berlin: W. de Gruyter & Co. (1963).
- RASH, E., u. H. SWIFT: Microphotometric analysis of the cytochemical Millon reaction. *J. Histochem. Cytochem.* **8**, 4—17 (1960).
- RATZENHOFER, M., u. E. SCHAUENSTEIN: Zur Struktur von Präkollagen, Kollagen und Hyalin nebst Bemerkungen über die Hyalinentstehung in verschiedenen Organen und in Karzinomen. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **35**. Tagg, Hannover 1951, S. 233—244.
- ROLLEHÄUSER, H.: Konstitutions- und Altersunterschiede in Festigkeit kollagener Fibrillen. *Gegenbaurs morph. Jb.* **90**, 157—179 (1951).
- SANDRITTER, W.: Ultraviolettmikrospektrophotometrie. In: W. GRAUMANN u. K. NEUMANN, Handbuch der Histochemie, Bd. I/1, S. 220—338. Stuttgart: Gustav Fischer 1958.
- SCHAUENSTEIN, E.: Das UV-Absorptionsspektrum der Proteine — Grundlagen und Grenzen der Auswertung. *Acta histochem.* (Jena) **4**, 208—211 (1957).
- , u. H. BAYZER: Über die quantitative Berücksichtigung der Tyndall-Absorption im UV-Absorptionsspektrum von Proteinen. *J. Polymer. Sci.* **16**, 45—51 (1955).
- , u. D. STANKE: (1) Die UltraviolettabSORption von Sehnenkollagen. I. *Makromol. Chemie* **5**, 262—286 (1951).
- , — (2) Die UltraviolettabSORption von Sehnenkollagen. II. *Makromol. Chemie* **8**, 7—20 (1952).
- SCHRAMM, G., u. H. DANNENBERG: Über die UltraviolettabSORption des Tabakmosaikvirus. *Ber. dtsch. chem. Ges.* **77**, 53—60 (1944).
- STEEDMAN, H. F.: Alcian blue 8 GS: A new stain for mucin. *Quart. J. micr. Sci.* **91**, 477—479 (1950).
- TREIBER, E., u. E. SCHAUENSTEIN: Einfluß und Berücksichtigung der Tyndall-Streuung bei der Bestimmung der konsumptiven Lichtabsorption. *Z. Naturforsch.* **4b**, 252—257 (1949).
- VERZÁR, F.: Ageing of collagen fiber. In: D. A. HALL, International review of connective tissue research, vol. 2, p. 243—300. New York and London: Academic Press 1964.