

Einfluß amyloidaffiner Farbstoffe auf die Amyloidresorption bei der kaseininduzierten Amyloidose der Maus * **

Paul Schmitz-Moormann

Pathologisches Institut der Universität Marburg (Direktor: Prof. Dr. W. Hort)

Eingegangen am 27. September 1974

The Influence of Dyes with Special Affinity to Amyloid on the Resorption of Casein-Induced Amyloidosis in Mice

Summary. 1. The influence of dyes with special affinity to amyloid on the resorption of experimental amyloidosis was studied in mice (A/J/Bom).

2. The amyloidosis was produced by injections of 5% casein over a period of seven weeks. After an interval of six weeks the animals received 0.5 ml of a 0.01% dye solution intraperitoneally (congo red, diamine green, Evans blue) or 0.9% NaCl (controls) every seventh day over a period of 22 weeks. 10, 17, and 22 weeks after the dye treatment was started 3–4 animals of each group were sacrificed and studied histologically.

3. In contrast to the in vitro findings of Shirahama *et al.* (1971), in vivo there is no acceleration of amyloid resorption by congo red. In the same way diamine green does not accelerate the resorption of amyloid. Evans blue produces a decrease in the amount of amyloid, but at the same time it causes wasting in the animals. Moreover, congo red and diamine green produce amyloidosis by themselves.

4. From our findings neither congo red nor the other amyloidaffine dyes studied, diamine green and Evans blue, are suitable for a therapy of amyloidosis.

Key words: Amyloidosis — Therapy of Amyloidosis.

Zusammenfassung. 1. An Mäusen (A/J/Bom) wurde geprüft, ob Kongorot entsprechend den in vitro-Befunden von Shirahama *et al.* (1971) auch in vivo zu einer beschleunigten Amyloidresorption bei einer kaseininduzierten Amyloidose führt. In der gleichen Weise wurden Diamingrün und Evans blue geprüft, die wie Kongorot eine erhöhte Amyloidaffinität aufweisen.

2. Weder Kongorot noch Diamingrün führen zu einer Beschleunigung in der Amyloidresorption. Bei Evans blue bildet sich die Amyloidose zwar früher zurück; gleichzeitig weisen die Tiere aber einen schweren Gewichtsverlust auf und gehen ein. Kongorot und Diamingrün rufen zudem selbst eine Amyloidose hervor, wenn sie über längere Zeit gegeben werden.

3. Nach unseren Befunden sind weder Kongorot noch die anderen untersuchten amyloidaffinen Farbstoffe (Diamingrün, Evans blue) für eine Amyloidtherapie geeignet.

Einleitung

Nach Missmahl (1969) bieten sich zur Therapie der Amyloidosen 4 Wege:

1. Hemmung der Fibrillenbildung aus der cellulär gebildeten, noch nicht fibrillär vorliegenden Amyloidsubstanz¹.

2. Auflösung bereits abgelagerter Amyloidsubstanz.

* Herrn Prof. D. F. Büchner zum 80. Geburtstag in Dankbarkeit und Verehrung gewidmet.

** Unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

1 Da die Amyloidfibrillen Bruchstücke der kurzen Ketten der Immunoglobuline sind (Glenner, 1972), sind die Immunoglobuline bzw. die Bruchstücke der kurzen Ketten diese „noch nicht fibrillär vorliegende Amyloidsubstanz“.

3. Beseitigung amyloidauslösender Faktoren.

4. Hemmung der cellulären Amyloidproduktion¹.

Dabei sind bisher nur die beiden letzten Wege therapeutisch gangbar. Eine Auflösung bzw. Resorption von Amyloid findet zwar statt (Williams, 1967; Poliack *et al.*, 1970), ein Weg zur therapeutischen Steigerung der Resorptionsrate ist aber bisher nicht bekannt. Shirahama *et al.* (1971) konnten nun zeigen, daß in Makrophagenkulturen die Phagocytose von Amyloidfibrillen durch eine Kongorotfärbung dieser Fibrillen beschleunigt wird. Da Kongorot auch bei parenteraler Zufuhr an Amyloid gebunden wird (Bennholdsche Probe), prüften wir, ob eine derartige Steigerung der Amyloidresorption auch *in vivo* möglich ist, in der Hoffnung, hier einen weiteren Ansatzpunkt für eine Amyloidtherapie zu finden. Zur Klärung dieser Frage erzeugten wir bei Mäusen mit Kasein eine Amyloidose und prüften, ob durch parenterale Gaben von Kongorot eine Steigerung der Amyloidresorption erreicht werden kann. In gleicher Weise untersuchten wir weitere Farbstoffe, die eine erhöhte Affinität zum Amyloid aufweisen.

Material und Methodik

Alle Tierversuche wurden an 35—45 g schweren männlichen Mäusen des Stammes A/J/Bom durchgeführt.

1. Vorversuch: Auslese amyloidaffiner Farbstoffe

Die Auswahl der Farbstoffe erfolgte unter zwei Gesichtspunkten. Einmal sollten sie wie Kongorot anionisch sein und auch sonst Kongorot in ihrer Struktur ähneln. Zum anderen sollten sie eine möglichst geringe Toxizität aufweisen. Folgende Farbstoffe wurden geprüft:
 1. Lebensmittelfarbstoffe: Cochenillerot A, Chrysoin S, Echtgelb und Orange GGN (Monoazofarbstoffe). 2. Mikroskopische Farbstoffe: Orange II und Azorubin als Monoazofarbstoffe, Evans blue, Diamingrün und Kongorot als Diazofarbstoffe sowie Echtrot E als Diazoniumverbindung. Paraffinschnitte von amyloidhaltigen Lebern wurden über 16 Std in eine 0,01 %ige Farbstofflösung eingestellt und mit der Färbelösung als Einschlußmittel eingedeckt. Bei der direkt anschließend durchgeföhrten mikroskopischen Untersuchung wurde geprüft, ob sich das Amyloid stärker angefärbt hatte als die übrigen Gewebsstrukturen.

2. Vorversuch: Prüfung der Farbstoffverträglichkeit

Diese Versuche wurden nur mit amyloidaffinen Farbstoffen (Diamingrün, Evans blue, Kongorot) durchgeführt.

a) Je 4 Mäusen wurde 0,1 ml der 1 %igen wäßrigen Farbstofflösung (in 0,9 % NaCl) intravenös injiziert. Nach 6 Tagen wurden die Tiere getötet und Leber, Milz sowie Nieren histologisch untersucht.

b) Je 5 Tieren wurde 0,5 ml der 0,05 %igen Farbstofflösung in 0,9 % NaCl) über 4 Wochen fünfmal wöchentlich intraperitoneal injiziert. Kongorot wurde bei einer weiteren Gruppe von 5 Mäusen in einer Dosis von 1 ml/Injektion gegeben. Die überlebenden Mäuse wurden 13 Wochen nach der letzten Injektion getötet. Histologie wie unter (a).

3. Vorversuch: Bestimmung der Amyloidinduktions- und -resorptionszeit

Amyloid wurde durch subkutane Injektionen von 5 % Kasein pH 7,0—7,5 (viermal wöchentlich 0,5 ml) und komplettem Freundschen Adjuvans (einmal wöchentlich 0,5 ml) über 7 Wochen erzeugt. (Vorversuche mit 2- und 4wöchiger Behandlung erbrachten keine Amyloidose). 3, 7, 16 und 30 Wochen nach der letzten Injektion wurden je 4 Tiere getötet und histologisch untersucht.

*Haupversuch: Prüfung des Einflusses amyloidaffiner Farbstoffe
auf die Amyloidresorption*

5 Gruppen von je 15—20 Mäusen erhielten über 9 Wochen fünfmal wöchentlich subkutan 0,5 ml einer 5%igen wäßrigen Kaseinlösung pH 7,0—7,5. Kein Freundsches Adjuvans! 6 Wochen später wurden alle Tiere mit subkutanen Abscessen, Pseudocysten und Hautnekrosen (insgesamt 13) aus dem Versuch herausgenommen und getötet. Vier weitere Tiere wurden getötet und untersucht, um die Ausgangsintensität der Amyloidose festzustellen. Die übrigen Mäuse wurden in 4 Gruppen von je 11—12 Tieren aufgeteilt. Drei Gruppen wurden in der Folgezeit einmal wöchentlich 0,5 ml einer 0,05%igen Farbstofflösung (in 0,9% NaCl) intraperitoneal injiziert, und zwar Diamingrün, Evans blue oder Kongorot. Die fünfte Gruppe diente als Kontrolle und erhielt nur physiologische Kochsalzlösung. Als weitere Kontrollen dienten 3 Gruppen von je 4 Mäusen, die nicht vorbehandelt wurden und die nur die obengenannten Farbstoffinjektionen erhielten. Von den 4 Versuchsgruppen wurden, so weit die Tiere so lange überlebten, je 3 oder 4 Tiere nach 10, 17 und 22 Wochen getötet. Die Kontrolltiere wurden ebenfalls am Ende der Untersuchung getötet. Bei allen Tieren wurden Körper- und Milzgewicht bestimmt sowie Leber, Milz und Nieren histologisch untersucht. Färbungen: Hämatoxylin-Eosin, Kongorot, Berliner-Blau. Die Menge der Amyloidablagerungen wurde durch Schätzung bestimmt und in 4 Stärkegrade aufgegliedert. Bei der Milz entsprach Grad 1 einzelnen perifollikulären Ablagerungen, Grad 2 ringförmigen perifollikulären Ablagerungen, Grad 3 zusätzlichen Ablagerungen in der roten Pulpa und Grad 4 ausgedehnten Ablagerungen in der weißen und roten Pulpa. Entsprechend waren an der Leber Grad 1 einzelne Ablagerungen in der intermediären Läppchenzone, Grad 2 Ablagerungen in der gesamten intermediären Läppchenzone, Grad 3 Übergreifen auf Läppchenzentrum und -peripherie, Grad 4 weitgehender Ersatz des Leberparenchyms durch Amyloid. An der Niere entsprach Grad 1 geringen Ablagerungen in den Glomerulumschlingen, Grad 2 ausgedehnten glomerulären Ablagerungen mit Amyloidnephrose, Grad 3 Amyloidschrumpfniere.

Ergebnisse

1. Vorversuch: Auslese amyloidaffiner Farbstoffe

Nur bei den Diazofarbstoffen Diamingrün, Evans blue und Kongorot wurden die Amyloidablagerungen stärker angefärbt als die übrigen Gewebsstrukturen, während sich bei den übrigen Farbstoffen keine Intensitätsunterschiede ergaben. Somit besitzen von den geprüften Farbstoffen nur diese drei eine erhöhte Affinität zum Amyloid. Im einzelnen war das Amyloid mit Evans blue und Kongorot deutlich, mit Diamingrün nur etwa stärker angefärbt als die übrigen Strukturen.

2. Vorversuch: Prüfung der Farbstoffverträglichkeit

a) Einmalige intravenöse Injektion. Evans blue führte zu einer deutlichen Blaufärbung der Haut. Kongorot und Diamingrün riefen nur eine schwache Verfärbung hervor. Bei der Tötung nach 8 Tagen hatte Evans blue Leber und Milz intensiv blau gefärbt. Bei den anderen Farbstoffen bestand nur eine geringe Verfärbung der Organe. Histologisch ließ sich keine Farbstoffspeicherung nachweisen. Die Milz wies bei allen Tieren eine geringe follikuläre Hyperplasie und eine leichte Plasmazellvermehrung der roten Pulpa auf.

b) Vierwöchige intraperitoneale Injektionen. Alle Evans blue-Tiere gingen in der 2. Woche ein. Unter der Dosis von 1 ml Kongorotlösung/Injektion gingen 3 Tiere in der 3. Woche ein. Die überlebenden Tiere erschienen nach Abschluß der Injektionsserie gesund. Bei der Tötung nach 13 Wochen wiesen jedoch je

zwei der kongorot- und diamingrünbehandelten Tiere eine Amyloidose auf. Zudem zeigte eines der kongorotbehandelten Tiere, bei dem versehentlich eine Injektion in die Leber gesetzt war, ein Angiosarkom der Leber.

*3. Vorversuch: Bestimmung der Amyloidinduktions- und -resorptionszeit
(Tabelle 1)*

3 und 7 Wochen nach einer siebenwöchigen Kaseinzufuhr zeigte nur ein Teil der Tiere eine Amyloidose. 16 Wochen nach Beendigung der Kaseinzufuhr war bei allen Tieren eine Amyloidose nachzuweisen. 14 Wochen später konnten nur noch bei einem Tier geringe Amyloidablagerungen festgestellt werden, die aber möglicherweise durch eine gleichzeitige bestehende Pyelonephritis unterhalten wurde. Die Amyloidablagerungen nahmen also nach Beendigung der Kaseinzufuhr noch über 16 Wochen zu und verschwanden erst in den folgenden 14 Wochen. Insgesamt waren die Amyloidablagerungen in der Milz am deutlichsten. Die Leberamyloidose war wesentlich geringer, noch geringer die Amyloidose der Nieren.

Tabelle 1. Amyloidresorption nach siebenwöchiger Induktion mit Kasein und Freundschem Adjuvans

Wochen nach Beendigung der Amyloidinduktion	Gesamt- zahl	Tiere mit Amyloidose			Stärke der Amyloidose ^a		
		Milz	Leber	Niere	Milz	Leber	Niere
3 Wochen	3	2	1	0	2	1	0
7 Wochen	4	2	2	1	3	1,5	1
16 Wochen	4	4	4	3	3	2	1
30 Wochen	4	1	1	1	1,5	1	0,5

^a Die Stärke der Amyloidose wurde durch Schätzung bestimmt und als Mittelwert der Tiere mit Amyloidbefall ausgedrückt.

*Hauptversuch: Einfluß amyloidaffiner Farbstoffe auf die Amyloidresorption
(Tabelle 2 und 3)*

Bei den *Kontrolltieren*, die *kein Kasein*, sondern *nur Farbstoff* erhielten, trat keine Amyloidose auf. Jedoch sahen wir bei einer Kongorot-behandelten Maus eine generalisierte Retikulosarkomatose. Der Farbstoff wurde in der Leber von Sternzellen gespeichert, in der Milz gelegentlich auch in der roten Pulpa. Weiterhin bestanden eine deutliche entzündliche Reaktion des Lebermesenchyms und eine leichte Vergrößerung der Milz. Zudem zeigte die Milz eine folliculäre Hyperplasie. Unter Kongorot kam es bei einem Tier zu einem deutlichen Gewichtsverlust. Unter Diamingrün blieb das Körperfge wicht im Bereich der Norm (Tabelle 2).

Bei den *kaseinbehandelten Tieren* (Tabelle 3) zeigten alle Versuchsgruppen nach Beendigung der Kaseinzufuhr einen Rückgang der Amyloidose, der aber bei den verschiedenen Versuchsgruppen unterschiedlich ablief. Bei den (mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten) *Kontrolltieren* waren die Amyloidablagerungen 16 und 23 Wochen nach Beendigung der Kaseinzufuhr leicht und

Tabelle 2. Körper- und Milzgewicht der Kontrolltiere nach 22wöchiger Farbstoffbehandlung
(Mittelwerte mit Standardabweichung)

Farbstoff	Körpergewicht in gr	Milzgewicht in gr
Diamingrün	35,4 \pm 3,7	0,14 \pm 0,12
Evans blue	26,5 \pm 3,3	0,19 \pm 0,11
Kongorot	31,2 \pm 6,6	0,19 \pm 0,10

Tabelle 3. Einfluß amyloidaffiner Farbstoffe auf die Amyloidresorption (Mittelwerte mit Standardabweichung)

Wochen nach Beendigung der Amyloid- induktion	Körper- gewicht in gr (Kg)	Milz- gewicht in gr (Mg)	Stärke der Amyloidose ^a			Relative Milz- amyloidose Ma \times Mg/Kg
			Milz (Ma)	Leber	Niere	
<i>Ausgangswert^b</i>						
6 Wochen	36,4 \pm 4,6	0,32 \pm 0,13	2,2 \pm 0,5	1,2 \pm 0,5	0,2 \pm 0,6	2,5 \pm 1,6
<i>Diamingrün</i>						
16 Wochen	36,2 \pm 8,3	0,30 \pm 0,10	2,2 \pm 0,8	1,7 \pm 0,9	0	1,7 \pm 0,3
23 Wochen	33,1 \pm 0,4	0,21 \pm 0	2,3 \pm 0,8	1,0 \pm 0	1,0 \pm 1,0	1,5 \pm 0,5
28 Wochen	44,0 \pm 5,0	0,26 \pm 0,12	0,8 \pm 0,8	0,3 \pm 0,3	1,0 \pm 1,0	0,5 \pm 0,4
<i>Evans blue</i>						
16 Wochen	36,3 \pm 2,0	0,34 \pm 0,11	2,5 \pm 1,3	1,3 \pm 1,1	1,3 \pm 0,4	2,7 \pm 1,8
23 Wochen	26,6 \pm 0,8	0,09 \pm 0,01	1,2 \pm 1,6	0,3 \pm 0,6	0	0,4 \pm 0,6
<i>Kongorot</i>						
16 Wochen	29,9 \pm 7,8	0,35 \pm 0,09	2,8 \pm 1,0	2,0 \pm 0,9	0,8 \pm 0,3	4,0 \pm 3,2
23 Wochen	36,4 \pm 5,6	0,27 \pm 0,07	3,5 \pm 0,5	1,5 \pm 0	2,3 \pm 0,3	2,6 \pm 1,0
28 Wochen	32,6 \pm 5,9	0,11 \pm 0,07	0,8 \pm 0,7	0,4 \pm 0,5	0,4 \pm 1,3	0,3 \pm 0,2
<i>Physiol. Kochsalzlösung</i>						
16 Wochen	36,0 \pm 7,5	0,26 \pm 0,14	2,7 \pm 1,1	1,2 \pm 1,1	0,7 \pm 0,8	2,3 \pm 1,5
23 Wochen	40,4 \pm 9,0	0,22 \pm 0,20	1,5 \pm 2,1	1,0 \pm 1,7	0,7 \pm 1,1	2,0 \pm 3,4
28 Wochen	35,1 \pm 0,6	0,14 \pm 0,01	0,5 \pm 0	0,2 \pm 0,4	0	0,2 \pm 0

^a Die Stärke der Amyloidose wurde durch Schätzung bestimmt. Definition der Stärkegrade s. Methodik.

^b Die Farbstoffbehandlung begann sechs Wochen nach Beendigung der Kaseinzufuhr.

nach 28 Wochen stark vermindert. Dabei wies ein Tier in der 23. Woche jedoch noch eine Amyloidzunahme auf. Unter der Behandlung mit *Diamingrün* nahm der Amyloidgehalt der Leber und Milz zwar erst in der 28. Woche deutlich ab; bestimmte man jedoch die Amyloidmenge aus Amyloidintensität der Milz, Milzgewicht und Körpergewicht (letzte Spalte Tabelle 3), so ergibt sich bereits für die 16. und 23. Woche eine leichte Verminderung der Amyloidmenge. Bei den *Kongorot*-behandelten Tieren nahm die Amyloidmenge bis zur 16. Woche deutlich zu, fiel aber bis zur 28. Woche auf etwa gleiche Werte wie bei den Diamin-

grün- und Kochsalz-behandelten Tieren. Außerdem kam es bei einigen Tieren in der 28. Woche zu einem Abfall des Körpergewichts unter 30 g. Unter *Evans blue* zeigten alle Tiere einen erheblichen Gewichtsverlust. Zudem ging ein Teil dieser Tiere ein. Parallel mit dem Gewichtsverlust bestand eine Abnahme der Amyloidablagerungen, die bereits in der 23. Woche zu Werten führte, wie sie in den anderen Gruppen erst nach 28 Wochen gesehen wurden.

In der Leber und Milz verliefen Amyloidneubildung und -resorption in etwas parallel, wenn auch die Milzamyloidose im allgemeinen stärker war und etwa früher auftrat. In der Niere traten Amyloidablagerungen meistens zuletzt auf. Sie nahmen aber nicht selten noch zu, wenn sie in Leber und Milz bereits zurückgingen. Die mesenchymale Reaktion in Leber und Milz war bei geringen Amyloidablagerungen ausgeprägt. Sie nahm ab, je stärker die Amyloidose war. Andererseits verstärkte sie sich wieder in dem Maße, in dem es zu einer Resorption des Amyloids gekommen war. Ähnlich verhielt sich die Farbstoffphagocytose in den Sternzellen.

Besprechung der Ergebnisse

Ausgangspunkt unserer Untersuchung war die Feststellung von Shirahama et al. (1971), daß in der Makrophagenkultur, d.h. *in vitro*, die Phagocytose von Amyloidfibrillen durch eine Kongorotfärbung dieser Fibrillen beschleunigt wird. Unsere Untersuchungen zeigen, daß im Tierversuch, d.h. *in vivo*, eine derartige Beschleunigung des Amyloidabbaus durch Kongorot nicht stattfindet. Auch mit Diamingrün, das ebenfalls eine hohe Affinität zum Amyloid aufweist, läßt sich eine derartige Beschleunigung nicht erreichen. *Evans blue*, ebenfalls ein amyloidaffiner Farbstoff, führte zwar zu einem verstärkten Amyloidschwund, gleichzeitig trat aber bei den Tieren eine massive Reduktion des Körpergewichts ein, und ein Teil der Tiere ging ein. Das spricht dafür, daß hier weniger die Amyloidresorption verstärkt als vielmehr die Neubildung von Amyloid gedrosselt wird, wie es ähnlich unter der Gabe von Resochin und Zytostatica beobachtet wird (Missmahl, 1969). Diamingrün und Kongorot rufen darüber hinaus, wenn sie in größerer Menge gegeben werden, von sich aus eine Amyloidose hervor, zeigen hier also ein ähnliches Verhalten wie Trypanblau (Uchino und Hosokawa, 1972). Kongorot scheint außerdem eine cancerogene Wirkung zu haben. Dafür spricht zumindest, daß wir bei einem Tier, das über 22 Wochen mit Kongorot behandelt worden war, eine Retikulosarkomatose beobachteten, während bei einem anderen Tier, bei dem eine Kongorotinjektion versehentlich in die Leber gesetzt worden war, ein Angiosarkom der Leber auftrat. Es verhält sich damit ähnlich wie andere Diazofarbstoffe, z.B. *Evans blue* und Trypanblau, die auch Lebertumoren und Retothelsarkome hervorrufen (Schramm, Bielka und Graffi, 1966). Für eine Amyloidtherapie ist nach unseren Untersuchungsergebnissen das Kongorot somit in keiner Weise geeignet. Das gleiche gilt für die übrigen von uns geprüften amyloidaffinen Farbstoffe (*Evans blue*, Diamingrün).

Die Amyloidresorption verlief bei unseren Versuchen ähnlich, wie sie von Polliack et al. (1970) an der Maus beschrieben wurde. Allerdings sahen wir im Gegensatz zu Polliack und in Übereinstimmung mit Williams (1967) nicht selten noch eine Zunahme oder sogar ein erstes Auftreten einer Nierenamyloidose, wenn die Leber- und Milzamyloidose bereits zurückging. Ob hier eine Verlagerung von

Amyloid aus der Leber und Milz in die Nieren stattfand, oder aber die Amyloidbildung und -resorption in den Nieren zeitlich später einsetzt, läßt sich nicht entscheiden. Schließlich fiel noch auf, daß nur dann eine Farbstoffphagocytose in der Leber histologisch nachweisbar war, wenn die Amyloidablagerungen bereits deutlich zurückgebildet oder von vornherein nur gering ausgebildet waren. Dieser Befund unterstützt die Ansicht von Zschiesche *et al.* (1967), daß die Amyloidresorption zu einer kompetitiven Hemmung der Phagocytoseaktivität führt.

Literatur

- Glenner, G. G.: The discovery of the immunoglobulin origin of amyloid fibrils and its pathogenetic significance. *Acta path. microbiol. scand., Sect. A, Suppl.* **233**, 114—121 (1972)
- Missmahl, H. P.: Therapie der Amyloidosen. *Dtsch. med. Wschr.* **94**, 2691—2692 (1969)
- Polliack, A., Laufer, A., Tal, Ch.: Studies on the resorption of experimental amyloidosis. *Brit. J. exp. Path.* **51**, 236—241 (1970)
- Schramm, T., Bielka, H., Graffi, A.: Geschwulsterzeugung durch chemische Substanzen. In: *Handbuch experimentelle Pharmakologie*, bearbeitet von H. Bielka, D. Bierwolf, A. Graffi und T. Schramm, Bd. XVI, Teil 12, Tumoren I, S. 218—219. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966
- Shirahama, T., Cohen, A. S., Rodgers, O. G.: Phagocytosis of amyloid: In vitro interaction of mouse peritoneal macrophages with human amyloid fibrils and their accelerated uptake after dye binding. *Exp. molec. Path.* **14**, 110—123 (1971)
- Uchino, F., Hosokawa, S.: Pathological study on amyloidosis: A new induction method of amyloidosis by trypan blue. *Acta path. jap.* **22**, 131—140 (1972)
- Williams, G.: Histological studies in resorption of experimental amyloid. *J. Path. Bact.* **94**, 331—336 (1967)
- Zschiesche, W., Heinecke, H., Klaus, S.: Die Phagozytoseaktivität des retikulohystiozytären Systems und ihre Beziehungen zur experimentellen Amyloidose der Maus. *Beitr. path. Anat.* **135**, 277—290 (1967)

Prof. Dr. P. Schmitz-Moormann
Pathologisches Institut der Universität
D-3550 Marburg a. d. Lahn
Robert-Koch-Str.
Bundesrepublik Deutschland