

## Die theoretischen Grundlagen der analytischen Chemie

Von GUNNAR HÄGG

Übersetzung aus dem Schwedischen von HANS BAUMANN  
197 Seiten

(Verlag Birkhäuser, Basel, 1950)  
(Fr. 22.–)

Der Verfasser hat sich die Aufgabe gestellt, die physikalisch-chemischen Grundlagen der Vorgänge in der analytischen Chemie, insbesondere in wässrigen Lösungen, in 21 knapp gefaßten Kapiteln nach modernsten Gesichtspunkten zu behandeln.

Einleitend wird das Massenwirkungsgesetz besprochen und der Begriff der Ionenaktivität erläutert. Es folgt eine kurze Besprechung über die Natur der chemischen Bindungen. Eine zentrale Stellung nimmt sodann die Brönstedtsche Definition der Begriffe «Säure und Base» ein und im Zusammenhang damit der Vorgang der Protolyse. In einem kurzen Kapitel wird die Bedeutung der Aktivität für die elektrolytische Leitfähigkeit berührt und auf die besondere Stellung des Wasserstoffions hingewiesen. Die Stärke der Protolyte, die Autoprotolyse und das Ionenprodukt des Wassers bilden den Gegenstand des folgenden Kapitels. Bei der Besprechung der Abhängigkeit des Protolsengleichgewichtes vom Säuregrad wird von der sehr bewährten Darstellung im  $\log c/p_H$ -Diagramm nach N. BJERRUM Gebrauch gemacht und im Anschluß daran praktische

Beispiele von Protolsen-Gleichgewichten besprochen. Dann folgt eine kurze Orientierung über Ampholyte. Auch den protolytischen oder  $p_H$ -Indikatoren ist ein kurzer Abschnitt gewidmet, um möglichst viel Raum für die Behandlung der protolytischen Titration, der Puffergemische, der Pufferkapazität und der Titrationsfehler bei der protolytischen Titration zu gewinnen, wobei wiederum die Darstellung im  $\log c/p_H$ -Diagramm mehrfach verwendet wird. Das Problem der Salzlöslichkeit und seine Beeinflussung durch die Ionen der Lösung wird unter Berücksichtigung der Ionenaktivität und mit Rücksicht auf die Bildung von komplexen Ionen diskutiert. Im Anschluß an dieses Kapitel wird der kolloide Zustand und die dadurch begünstigten Erscheinungen der Adsorption besprochen. Sodann werden die Salzfällungen in ihrer Bedeutung als analytische Bestimmungs- und Trennungsmethoden gewürdigt. Den Schluß des Buches bilden zwei Kapitel über Oxidationen und Reduktionen und ihre Verwendung in Redoxtitrationen.

Wenn auch einzelne Kapitel des Buches für den angehenden Analytiker bezüglich der Fundierung der angewandten Gleichungen wohl einzelne Wünsche offen lassen, so dürfte dies darin begründet sein, daß der Autor vor allem die Anwendung der physikalisch-chemischen Gesetze auf die Vorgänge insbesondere der Maßanalyse in einem knappen Rahmen zu geben versuchte. Die Darstellung des Textes und die Ausstattung des Buches sind vorzüglich, so daß diesem neuen Lehrbuch eine weitere Verbreitung zu wünschen ist.

W.D.TREADWELL

## Informations - Informationen - Informazioni - Notes

### STUDIORUM PROGRESSUS

#### L'influence d'un extrait osseux (Ossopan) sur la consolidation de fractures *in vitro*

Par O. BUCHER et J.-Th. WEIL<sup>1</sup>

Les premiers travaux concernant le développement d'os embryonnaires dans la culture *in vitro* ont été fournis par FELL et ROBISON<sup>2</sup>. Ces auteurs ont basé leurs recherches sur des fémurs et des tibias, isolés d'embryons de Poule âgés de 5½ à 6 jours. Ils ont pu démontrer par leur méthode de culture en verre de montrer que les os de cet âge possèdent une remarquable capacité d'autodifférenciation.

Animé par les travaux de FELL, NIVEN<sup>3</sup> attaqua une autre question, celle de la consolidation osseuse après traumatisme expérimental. Il constata que la régénération *in vitro* se fait plus ou moins complètement suivant l'âge des os explantés (5½ à 9 jours) et les conditions dans lesquelles les cultures sont maintenues.

ZAWISCH-OSENITZ<sup>4</sup> tenta d'influencer le développe-

ment osseux et traita dans ce but de jeunes Lapins et des Chats avec de l'extrait osseux auto- et homospécifique et put observer une augmentation de la croissance osseuse, accompagnée d'une différenciation histologique quantitativement et qualitativement supérieure. Par ailleurs HOFFMEISTER, TEICHMANN et ROTHENHEIM, LEVANDER, MISURSKI et enfin ANNERSTEN<sup>1</sup> étudièrent tous l'influence pharmacologique d'extrait embryonnaire et osseux sur la croissance et la différenciation des os *in vivo* et constatèrent à l'unanimité l'effet favorable de ces extraits.

Partant de ces différentes données, il nous a semblé intéressant d'étudier la consolidation osseuse *in vitro* après traumatisme expérimental sur des os embryonnaires plus âgés que ceux de NIVEN et par ailleurs d'examiner l'influence que pourrait avoir un extrait osseux sur le processus de réparation.

Nos investigations portèrent sur l'examen histologique de plus de 200 os longs de 50 embryons de Poule, après une durée d'incubation variant de 12 à 15 jours. Nous avons adopté pour nos recherches la méthode de culture élaborée par le Strangeways Research Laboratory à Cambridge<sup>2</sup> et avons cultivé nos fémurs et tibias

<sup>1</sup> Institut d'Histologie de l'Université de Lausanne.

<sup>2</sup> H.B.FELL et R.ROBISON, Biochem. J. 23, 767 (1929).

<sup>3</sup> J.S.F.NIVEN, J. Pathol. and Bacteriol. 24, 307 (1931); Arch. Exper. Zellf. 11, 253 (1931).

<sup>4</sup> C.ZAWISCH-OSENITZ, Z. mikrok.-anat. Forsch. 23, 169 (1930); 26, 173 (1931); 42, 595 (1937); Wien. Klin. Wschr. 26, 6 (1934).

<sup>1</sup> W.HOFFMEISTER, T.TEICHMANN et A.ROTHENHEIM, D. Zschr. Chir. 231, 380 (1931). — G.LEVANDER, Surg. Gyn. and Obst. 67, 705 (1938). — B.MISURSKI, Arch. Exper. Zellf. 23, 80 (1939). — S.ANNERSTEN, Inaug.-Diss. Uppsala 1940.

<sup>2</sup> H.B.FELL et R.ROBISON, Biochem. J. 23, 767 (1929).

pendant une période de 1 à 12 jours *in vitro*<sup>1</sup>. Après prélèvement stérile de l'embryon d'un œuf de Poule nous en avons isolé les os longs des extrémités (fémur, tibia etc.), et les ayant libérés de toute la masse de tissu charnu qui leur adhère, nous avons produit une fracture plus ou moins transversale au minimum à travers la moitié de l'os périchondral de la diaphyse. Le milieu de culture sur lequel les explants furent posés se composait de plasma sanguin de Poule et de suc embryonnaire, disposé sur des verres de montres que nous placions au nombre de deux dans une boîte de Pétri. Le fond des boîtes de Pétri était recouvert d'une mince couche de ouate imbibée d'eau distillée, constituant ainsi une chambre humide. Les os, reposant sur la surface du coagulum de culture, furent ensuite placés à l'étuve à 38° C. Tous les 3 ou 4 jours les explants furent repiqués sur un nouveau milieu de culture analogue.

Les étapes principales des processus de réparation que l'on observe au niveau de l'espace interosseux sont les suivantes: vers le 3<sup>e</sup> jour environ un lâche réseau fibroblastique occupe l'espace interfragmentaire, puis vers le 4<sup>e</sup> ou 5<sup>e</sup> jour une réaction cellulaire de la couche ostéogène apparaît et c'est vers le 6<sup>e</sup> jour que l'on distingue de jeunes ostéoblastes qui commencent à s'entourer de substance ostéoïde, constituant ainsi l'ébauche de futurs flots osseux néoformés. Un jour plus tard environ un fin liséré sous-périostique fait son apparition des deux côtés de la brèche interfragmentaire et c'est entre le 7<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> jour que l'on observe la naissance de capuchons d'ostéoïde, coiffant les anciens trabécules sectionnés et poussant à l'encontre les uns des autres. La continuité osseuse peut être rétablie dès le 10<sup>e</sup> jour et au-delà ce ne sont que les processus engagés qui se prononcent. L'imprégnation de sels calcaires qui est à la base du durcissement du cal et son remaniement sont des phénomènes de réparation tardifs et n'ont pas été étudiés dans ce travail.

Nos investigations portèrent donc, contrairement à celles des auteurs précités<sup>2</sup> travaillant sur l'influence d'extrait osseux *in vivo*, sur le domaine de la culture *in vitro* ou plus exactement sur la réparation de fractures expérimentales en dehors de l'organisme. Il est particulièrement intéressant de noter qu'une réparation puisse se faire malgré l'élimination de la circulation sanguine, de toute connexion nerveuse ou régulation humorale et de tension musculaire. Nous avons utilisé un extrait osseux (Ossopan), fourni par les Laboratoires de la Robapharm S.A. à Bâle. Cette préparation contient la totalité d'os de jeunes animaux, y compris les épiphyses et la moelle hématopoïétique.

Nous avons ajouté au milieu de culture un peu de cette poudre jaunâtre (l'Ossopan n'est pas hydro-soluble), en la plaçant à proximité des explants sur le coagulum que nous incisions légèrement à l'aide d'un petit couteau à cataracte. L'Ossopan ne pouvant être stérilisé nous avons additionné nos milieux d'une goutte de solution pénicillinée (500 à 1000 unités par cm<sup>3</sup>), afin d'éviter des infections bactériennes.

Les conditions expérimentales des os traités à l'extrait osseux furent absolument identiques de celles des os cultivés sur milieu habituel. Pour notre étude comparative nous avons toujours traité les os d'une extrémité d'un embryon de Poule avec de l'Ossopan et avons cultivé les os de l'autre sur un milieu à composition

usuelle<sup>1</sup>. Nous avons vu précédemment qu'un lâche réseau fibroblastique recouvrait la brèche interfragmentaire après 3 jours de culture *in vitro*. Dans les os traités à l'extrait osseux la densité de ce réseau est plus grande, les cellules y sont plus nombreuses et l'on voit

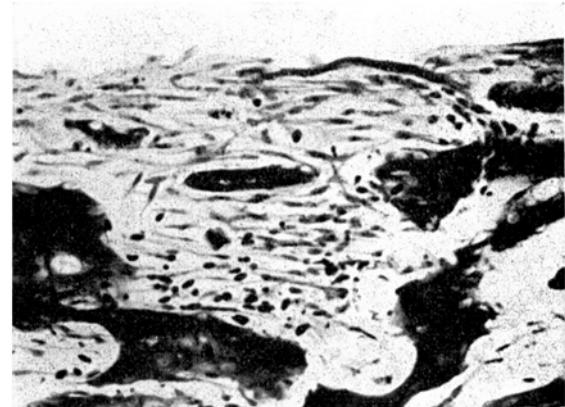


Fig. 1. — Tibia fracturé d'un embryon de Poule après une incubation de 14 jours et 3 jours de culture *in vitro* sur un milieu additionné d'Ossopan. Notez la densité du réseau cellulaire dans l'espace interosseux.

apparaître plus tôt des ostéoblastes. S'ils sont à distinguer vers le 5<sup>e</sup> ou 6<sup>e</sup> jour dans les explants non-traités, ils se trouvent déjà à partir du 4<sup>e</sup> jour dans leurs pendants influencés par l'Ossopan. Le liséré sous-périostique de substance ostéoïde fait également son apparition plus tôt, mais c'est surtout et avant tout la densité cellulaire qui frappe. Elle s'étend si bien à la couche ostéogène du périoste qu'à l'aspect général des os, de la moelle osseuse



Fig. 2. — Fémur fracturé d'un embryon de Poule après une incubation de 12 jours et 7 jours de culture *in vitro* sur un milieu additionné d'Ossopan. La couche d'ostéoïde sous-périostique et différents foyers de substance préosseuse sont nettement visibles.

même. Après 6 jours de culture les capuchons ostéoides, coiffant les anciens trabécules sectionnés d'une part et les lisérés sous-périostiques de l'autre, tentent à rétablir la continuité osseuse, mais là encore les os traités à l'Ossopan devancent les os de contrôle. Vers le 7<sup>e</sup> jour la substance ostéoïde élaborée par les ostéoblastes présente des foyers de départ plus nombreux et est plus massive d'une façon générale.

<sup>1</sup> O. BUCHER, Verh. Anat. Schweiz. Hochschulen, Fribourg 1949 (Ref. Schweiz. Med. Wschr. 1950). — Acta Anat. (sous presse).

<sup>2</sup> C. ZAWISCH-OSSENITZ, Z. mikrok.-anat. Forsch. 23, 169 (1930); 26, 173 (1931); 42, 595 (1937); Wien. Klin. Wschr. 26, 6 (1934).

<sup>1</sup> J. TH. WEIL, Thèse de la Faculté de Médecine de l'Université de Lausanne 1950 (sous presse).

Mais petit à petit, vers le 8<sup>e</sup> et 9<sup>e</sup> jour, on peut observer que les os cultivés sur des milieux à composition habituelle ratrappent lentement ceux, où il y avait eu addition d'extrait osseux. Si les trabécules des os sur milieu non-influencé se solidifient par apposition, si les ostéoblastes de plus en plus nombreux forment toujours davantage d'ostéoïde, constituent de nombreux îlots d'os néoformé, les trabécules des os sur milieux avec Ossopan deviennent plus grèles, leur coloration reste plus pâle, les ostéoblastes sont plus petits et présentent fréquemment des noyaux pycnotiques et on ne voit apparaître que de rares îlots osseux néoformés.

Enfin vers le 10<sup>e</sup> jour les os non-traités devancent nettement leurs pendants traités. Dans les os cultivés sur milieu habituel la continuité périostique et sous-périostique est entièrement rétablie et celles des travées osseuses est assurée par les capuchons de substance préosseuse qui vient combler l'espace interfragmentaire. Il n'en est pas de même pour les os traités, là l'ostéoïde semble déperir ou tout au moins arrêter sa croissance, quoique des mitoses trouvées ça et là prouvent encore la vitalité de tels explants. L'évolution qui s'annonçait si favorable au début ne progresse plus et la brèche interosseuse redevient plus visible.

Vers le 12<sup>e</sup> jour enfin la situation n'a plus guère changé, le processus de réparation s'est poursuivi, mais à un rythme très lent. Rien de fondamentalement nouveau n'entre en jeu et les processus entamés poursuivent leur cours, sans toutefois marcher à l'égal de l'évolution que prend le cal des os dans les séries de contrôle.

Ajoutons maintenant à cet exposé de principe quelques remarques statistiques, afin de démontrer la fréquence des cas réellement aussi favorables que ceux que nous venons de prendre comme exemple type pour notre description. Des 70 paires osseuses que nous avons pu utiliser pour notre étude comparative, 24 se sont avérés être à un stade de développement égal. Dans 14 cas les os des séries de contrôle furent plus avancés et dans 32 cas les résultats obtenus après addition d'Ossopan au milieu de culture furent supérieurs. Certes, la différence de ces deux catégories n'est pas énorme, mais n'oublions pas que nous ne pouvions guère nous attendre à un résultat plus frappant, vu les conditions déjà plus ou moins optimales dans lesquelles nos cultures sont maintenues. Leur milieu, composé de suc embryonnaire et de plasma de Poule, contient absolument toutes les substances nécessaires à leur évolution et la température réglée à un degré optimal y met du sien pour rendre les conditions de culture aussi favorables que possible. Dans de telles conditions on ne peut trop attendre d'un extrait qui amène certainement des substances activatrices et utiles, mais non pas des substances qui manquaient à nos explants. En plus, nous avons vu dans ce qui précédait que la substance active contenue dans l'extrait osseux semble avoir son point d'attaque dans l'ostéoblaste lui-même. Nous pourrons par conséquent nous attendre à une action favorable plus prononcée, lorsque nous nous trouvons en face d'une activité ostéoblastique insuffisante. En prenant en considération ces faits divers nous pouvons néanmoins reconnaître une tendance de l'Ossopan vers l'activation du développement physiologique d'une part et de la consolidation osseuse de l'autre.

Le tableau ci-dessous donne le rapport entre les os plus avancés après une durée variable *in vitro* à l'état non-influencé (série de contrôle) et après addition d'Ossopan au milieu de culture. Nous avons formé trois groupes de durée variable, le 1<sup>er</sup> de 1 à 4 jours *in vitro*, le 2<sup>er</sup> de 5 à 8 jours et enfin le 3<sup>er</sup> de 9 à 12 jours. L'étude de ce tableau démontre que la différence entre les os traités et

les os non-traités est nette au début et surtout au milieu de notre durée de culture, mais qu'elle diminue et tend à s'égaliser au delà d'une durée de 8 jours. C'est donc dire en d'autres termes que l'action favorable de l'extrait osseux sur la différenciation de l'os et la consolidation de l'os fracturé s'exerce en première ligne sur les stades jeunes et que cette action stimulante se perd ou s'égalise à mesure que se prolonge la durée *in vitro*.

Durée totale <i>in vitro</i>	Nombre de paires osseuses	Égalité des 2 groupes	Différence entre les 2 groupes	
			Avance os de contrôle	Avance os traités
1 à 4 jours	21	10	3	8
5 à 8 jours	34	10	6	18
9 à 12 jours	15	4	5	6
Total	70	24	14	32

Ce résultat est d'ailleurs en accord avec les résultats obtenus par KÜNG<sup>1</sup> dans ses expériences *in vivo* sur des rats. Lui aussi a pu observer que la réparation chez les animaux traités, en avance au début, est rejoints par celle des animaux non-traités à une plus longue échéance.

Nous avons noté de manière presque constante que la taille des os traités à l'Ossopan restait en général inférieure à celle des os non-influencés. Or, nous avons dit précédemment que les extraits osseux influençaient favorablement la différenciation du cal et, comme nous savons que la croissance et la différenciation se comportent en quelque sorte comme des antagonistes, il est parfaitement compréhensible que le même facteur qui favorise d'une part la différenciation du tissu osseux, d'autre part en inhibe en même temps sa croissance.

### Summary

The repair *in vitro* of long bones after experimental injury was studied and influenced with bone extract (Ossopan). The explants were cultivated by the watch-glass method in a medium of chick-plasma and embryonic extract, varying the culture time from 1 to 12 days. The bones cultivated on the above medium with addition of bone extract, showed a greater number of cells in general and particularly in the region of the callus. Osteoblasts appeared as early as the fourth day. The early appearance and quantity of the periostal osteoid tissue was striking. By the eighth day, the repair in the treated bones became slower, while the callus formation in the uninfluenced bones progressed normally. Generally the bone-continuity was more or less reestablished on the tenth day. These experiments prove the clear influence of bone extract on activation of bone healing during the first 8 days following explantation.

<sup>1</sup> H. L. KÜNG, Helv. chir. acta 1950 (sous presse).

### Corrigendum

E. H. REINAU, Kohlensäuredüngung, Humus und Maximalerträge, Exper. 6, 396, fasc. 10 (1950): Der Autor macht uns darauf aufmerksam, daß es auf Seite 399, linke Kolonne, zwölfte Zeile von unten, heißen muß: 1200 mm Regen anstatt 12000 mm Regen.