

	1. Kontroll- periode	ACh 10 <sup>-5</sup> g/ml	2. Kontroll- periode	ACh 10 <sup>-5</sup> µ/ml	3. Kontroll- periode
Membranpotential $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ . . . . .	68,86 $\pm$ 0,79	56,25 $\pm$ 1,79	68,77 $\pm$ 1,15	61,33 $\pm$ 2,50	68,10 $\pm$ 1,56
t-Test . . . . .	$\uparrow$ $P < 0,001$ $\uparrow\uparrow$ $P < 0,001$ $\uparrow\uparrow$ $P < 0,01$ $\uparrow\uparrow$ $P < 0,01$ $\uparrow$ $\uparrow$ $P > 0,1$ $\uparrow$				
Anzahl der Messungen . . . . .	50	20	40	12	20
Dauer der Periode in Minuten . . . . .	75	12	60	10	35

25–34 mV, und zur Ausbildung eines neuromuskulären Blockes, nicht aber zu einer Kontraktur des Zwerchfells. MUSCHOLL und LÜLLMANN<sup>5</sup> verfolgten das Auftreten der ACh-Kontraktur nach Denervation des Rattenzwerchfells; dabei ergab sich, dass die Ausbildung einer vollen Kontraktur und die Hemmung elektrisch ausgelöster Kontraktionen nach ACh 10<sup>-5</sup> g/ml am 7.–9. Tag nach Denervation beginnt. Ob die Senkung des Membranpotentials auf einen bestimmten Wert zur Kontraktur und zur Kontraktionshemmung führt oder ob zusätzliche Funktionsänderungen der Muskelzellen des denervierten Skelettmuskels zur Wirkung depolarisierender Substanzen hinzukommen müssen, lässt sich im Augenblick wohl nicht entscheiden.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.  
H. LÜLLMANN und W. PRACHT  
Pharmakologisches Institut der Universität Mainz, den  
4. März 1957.

Summary

The membran potential of isolated rat-diaphragms has been measured by means of intracellular micro-electrodes, in order to study changes of the resting potential and of the depolarizing action of acetylcholine after section of the phrenic nerve. Within 80 days after denervation, the membrane potential was found to fall exponentially from 87 mV to 66 mV. The action of acetylcholine, on the other hand, was found to be independent of the duration of denervation: between the 4th and the 80th day of denervation: 10<sup>-5</sup>g/ml acetylcholine always caused the membrane potential to fall by an average of the 9 mV.

<sup>5</sup> E. MUSCHOLL und H. LÜLLMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. 226, 88 (1955).

Gewebsreaktionen nach Implantation  
von Hyaluronsäure\*

Im Rahmen einer grösseren Arbeit über die Bindegewebs- und Knorpelgrundsubstanz wurde unter anderem die Wirkung der Implantation einer aus Nabelschnüren gewonnenen Hyaluronsäure auf das umgebende Gewebe im Tierversuch geprüft.  
Methodik. Ausgewachsenen Meerschweinchen beiderlei Geschlechts wurde in Äthernarkose die Innenseite der Tibia freipräpariert. Das Periost wurde längs und quer gespalten, so dass es sich gut abschieben und entfernen liess. Es wurde stets darauf geachtet, dass das

Periost in einer solchen Ausdehnung entfernt war, dass es nicht mit der implantierten Hyaluronsäure in Verbindung kam. Hierauf wurde, nach Abtupfen eventueller Blutreste, Hyaluronsäure in fester Form (5–8 mg) unmittelbar an den Knochen (Tibia) angelagert. Muskelnaht und Hautnähte.  
In der Versuchsreihe über die hier berichtet wird, wurden die Tiere jeweils 1, 2, 3, 4 und 7 Wochen nach der Operation getötet, die Unterschenkel wurden herauspräpariert und nach Entfernung der oberflächlichen Muskelschichten in Formalin fixiert, entkalkt, in Paraffin eingebettet und die Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

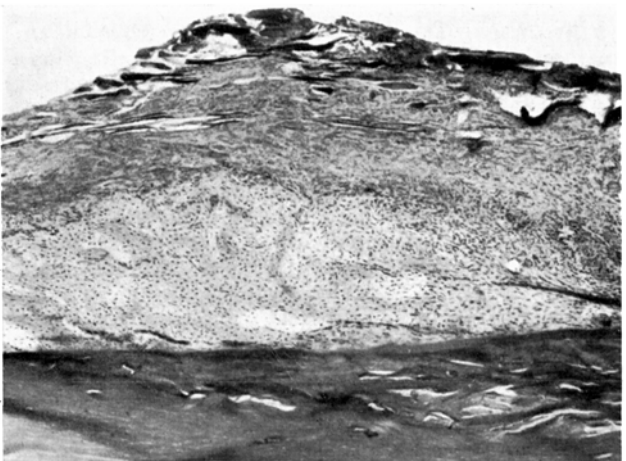


Abb. 1. Eine Woche nach der Operation.

Im postoperativen Verlauf traten keinerlei Reizerscheinungen auf. Bei der Präparation fand sich stets makroskopisch eine deutliche Verdickung und Auftreibung an der Implantationsstelle. Die dem Knochen anliegenden Weichteile erschienen hier teilweise mit demselben verwachsen. Reste einer eventuellen Blutung fanden sich niemals. Nach der zweiten Woche liess sich in der Verdickung eine Verhärtung tasten, die sich auch röntgenologisch, bei den einzelnen Tieren mit gewissen quantitativen Unterschieden, nachweisen liess.  
Die nun folgenden Mikroaufnahmen der einzelnen Verdickungen geben die histologischen Befunde 1, 3 und 7 Wochen nach der Implantation von Hyaluronsäure wieder.  
Die Abbildung 1 zeigt am unteren Rand des Bildes einen Teil der Tibiacorticalis (Pfeil 1), auf der ein zellreiches, gefässarmes Bindegewebe sitzt, das an seinem oberen Rand noch einige Muskelfasern erkennen lässt. Innerhalb der bindegewebigen Neubildung fällt, der

\* Vorläufige Mitteilung



Abb. 2. Drei Wochen nach der Operation.



Abb. 3. Sieben Wochen nach der Operation.

Corticalis aufliegend, ein ausgedehnter, zellreicher Bezirk auf, der eine beginnende Verknöcherung sehen lässt (Pfeil 2).

In der Abbildung 2, drei Wochen nach der Operation, zeigt sich an der Implantationsstelle eine mehr knospenartige Neubildung. An der Peripherie findet sich zellreiches Bindegewebe, und nach dem Zentrum zu folgt eine Schicht Knorpelzellen mit teilweiser säulenförmigen Anordnung. Das Auftreten von Knorpelzellen konnte auch an anderen Präparaten ausgewachsener Tiere festgestellt werden, jedoch nicht regelmässig. Im Innern der Knospe finden sich ausgedehnte verkalkte Bezirke. Die Corticalis ist in dieser Vergrösserung nicht mehr sichtbar, sie wäre am unteren Rand des Bildes zu sehen.

Das Ergebnis 7 Wochen nach der Operation zeigt die Abbildung 3. In der unteren rechten Ecke des Bildes ist ein Teil der ursprünglichen Corticalis erkennbar (Pfeil 1). Das neugebildete, noch sehr zellreiche, Knorpelgewebe ist im Vergleich zu den anderen Abbildungen dichter geworden und lässt am oberen Rand noch einen Saum zellreichen Bindegewebes erkennen (Pfeil 2).

Zusammenfassend lässt sich als vorläufiges Ergebnis dieser Versuchsreihe feststellen, dass es gelungen ist, durch Anlagerung von Hyaluronsäure an den periostfreien Unterschenkel ausgewachsener Meerschweinchen eine starke Bindegewebsneubildung hervorzurufen. In diesem neugebildeten Bindegewebe zeigen sich in der Nachbarschaft der Corticalis, an die die Hyaluronsäure angelegt worden war, Verkalkungen, und in einer Reihe Präparate liessen sich ausserdem noch Knorpelzellen nachweisen (Abb. 2). In dem neugebildeten Bindegewebe fanden sich keinerlei Zeichen einer Entzündung (Fremdkörperreaktion) oder Blutungen, die die Entstehung der Verknöcherungen oder eine Unterstützung der Entstehung derselben im Sinne eines organisierten Hämatoms erklären könnten. Ein solcher Einfluss wird auch unwahrscheinlich, wenn man noch tiefere Schichten der Neubildung untersucht. Man findet dann unter anderem eine Auflockerung der Corticalis (angedeutet sichtbar in Abbildung 1, in der rechten Bildhälfte), und ohne hier auf weitere Einzelheiten einzugehen, kann gesagt werden, dass sich noch weitere Veränderungen in der Grundsubstanz abspielen, die ohne Zweifel von der angelagerten Hyaluronsäure ausgehen. Sie sollen Gegenstand einer späteren Mitteilung sein. Bei dem bisher vorliegenden Untersuchungsmaterial von 100 Tieren, denen verschiedene Hyaluronsäurepräparationen im-

plantiert worden waren, fanden sich, mit geringen quantitativen Abstufungen, stets die gleichen Befunde, wie sie im vorangehenden angeführt wurden.

Auf Grund der Tierversuche lag die Frage nahe, ob nicht eine gleichsinnige Wirkung (Bindegewebsneubildung, Verknöcherung) der Hyaluronsäure bei Anlagerung an den menschlichen Knochen zu finden sei, die damit dann zu einer Hilfe bei der Heilung von Frakturen, Osteotomien, Pseudarthrosen, Cysten usw. werden könnte. Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass sich zum Beispiel bei einer beidseitigen Osteotomie eine vermehrte Verknöcherung im Bereich der angelagerten Hyaluronsäure, im Vergleich zur unbehandelten Seite, einwandfrei findet. Reizerscheinungen durch die angelagerte Hyaluronsäure konnten bisher auch beim Menschen nicht beobachtet werden.

Weitere Einzelheiten der Auswertung der histologischen Befunde und deren Bedeutung für die Erforschung der Grundsubstanz sowie die Wiedergabe der Befunde, die mit anderen Polysacchariden, mit anderen Verbindungen (als Kontrolluntersuchung) und mit Chondroitinschwefelsäure und deren Natriumsalz erzielt wurden, und die histochemischen Untersuchungen sollen Gegenstand einer umfassenderen Mitteilung sein, in der auch die Ergebnisse beim Menschen dargestellt werden sollen.

Für viele Ratschläge und Hinweise bei der Beurteilung der Befunde bin ich Herrn Prof. Schallock (Mannheim) zu besonderem Dank verpflichtet.

Unsere technischen Assistentinnen Fr. H. QUICK, Fr. G. GOLD und Fr. G. RÜBNER danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

Den Farbwerken Hoechst, vorm. Meister, Lucius und Brüning, Frankfurt a.M.-Hoechst, danke ich für die Überlassung der Hyaluronsäure und Herrn C. LUDWIG, Firma Leitz (Wetzlar), für die Unterstützung bei der Anfertigung der Mikroaufnahmen.

E. G. BRUCKSCHEN

*Orthopädische Universitätsklinik Friedrichsheim, Frankfurt am Main, den 7. November 1956.*

#### Summary

A report is given on the histological findings after the application of hyaluronic acid to the tibiae of adult guinea pigs. The possible importance of these findings for human medicine is briefly discussed and the results so far obtained in humans are given.