

Institut für pathologische Anatomie der medizinischen Universität, Pécs
(Vorstand: Prof. G. Romhányi)

ÜBER DIE SUBMIKROSKOPISCHE STRUKTUR DER ELASTISCHEN FASERN

Gy. Romhányi

(Eingegangen am 4. September, 1954)

Unsere Kenntnisse über die feinere Struktur der elastischen Fasern wurden in den letzten Jahren insbesondere durch die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wesentlich gefördert. Besonders bedeutend für die Erforschung der chemisch-strukturellen Organisation der elastischen Fasern erwies sich die von *Baló* und *Banga* entdeckte und von *Banga* in kristallinischer Form hergestellte spezifisch elastolytisch wirkende Pankreas-Elastase. Nach den elektronenmikroskopischen Beobachtungen bestehen die elastischen Fasern aus längsorientierten elementaren Fibrillen, die in eine elektronenmikroskopisch homogene Grundsubstanz eingebettet sind. Wegen der elektronstreuenden Beschaffenheit der Kittsubstanz konnten die fibrillären Komponenten der elastischen Fasern erst nach einer durch Elastase oder durch Ultraschallbehandlung bewirkte Entfernung der Grundsubstanz sichtbar gemacht werden. An den fibrillären Bestandteilen der elastischen Fasern haben *Schwarz* und *Dettmer* (1953) eine elektronenmikroskopisch den kollagenen Fasern ähnliche Querstreifung beobachtet. Bei Silberimprägnation zeigten diese Fibrillen in elektronenmikroskopischen Bild nur einen oberflächlichen, also den retikulären Fibrillen entsprechenden Imprägnationstyp, wogegen die kollagenisierten Fibrillen einen, die D-Scheiben durchdringenden Imprägnationstyp aufweisen. Kurz vorher berichtete *Schwarz* (1954) über die Altersveränderungen der elastischen Fasern der menschlichen Aorta, bei welchen sich, auch dem Imprägnationstyp nach, eine fortschreitende Kollagenisierung der Elementarfibrillen der elastischen Fasern nachweisen liess. Für eine Beziehung zwischen elastischen Fasern und kollagenen Fasern schienen schon die älteren polarisationsoptischen Befunde von *W. J. Schmidt* zu sprechen, nach denen die elastischen Fasern, wenn sie überhaupt Doppelbrechung aufweisen, ihren optischen Charakter nach Phenolbehandlung umkehren, also den präkollagenen, bzw. kollagenen Fasern ähnliches Verhalten aufweisen. Es tauchte also, aus zwei verschiedenen Untersuchungsrichtungen, die Frage einer chemisch-strukturellen Verwandtschaft zwischen den fibrillären Komponenten der kollagenen und jenen der elastischen Fasern auf.

Tatsächlich scheint heute die Frage der Natur der fibrillären Komponenten der elastischen Fasern und deren Beziehung zu der spezifischen Grundsubstanz in der Strukturforschung der elastischen Fasern im Vordergrund zu stehen. Sind die fibrillären Komponenten der elastischen Fasern wirklich von kollagener, bzw. präkollagener Natur? Beschränkt sich die spezifisch elastolytische Wirkung der Elastase nur auf die elektronenoptisch homogene Grundsubstanz, sind also die fibrillären Bestandteile der elastischen Fasern elastaseresistent, oder werden auch die submikroskopischen fibrillären Bestandteile mitverdaut? Eben in dieser Beziehung sind die Befunde der elektronenmikroskopischen Untersuchungen einander widersprechend. Schwarz und Dettmer fanden, dass die fibrillären Bestandteile der elastischen Fasern nach Elastasewirkung erhalten blieben, sich also elastaseresistent erwiesen. Sie behaupten, dass sich die spezifisch elastolytische Wirkung nur auf die elektronenoptisch homogene Grundsubstanz beschränkt und die fibrillären Komponenten unberührt lässt. An mit Resorzin-Fuchsin gefärbten Präparaten sahen diese Autoren bei elektronenmikroskopischer Beobachtung Bilder, die dafür sprachen, dass sich die spezifische Elasticafärbung auf die Grundsubstanz lokalisiert. Auf Grund ihrer Beobachtungen führen Schwarz und Dettmer eine scharfe Trennung zwischen zwei Strukturbestandteilen der elastischen Fasern durch und unterscheiden: a) eine im engeren Sinne als «Elastin» definierbare elektronenmikroskopisch homogene Grundsubstanz, von welcher die spezifische Färbung der elastischen Fasern abhängig ist und welche allein bei Elastasewirkung aufgelöst und entfernt wird, b) fibrilläre Komponenten, welche den kollagenen Fasern ähnliche Querstreifung, jedoch einen für die retikulären Fasern charakteristischen Imprägnationstyp aufweisen und die sich der Elastasewirkung gegenüber als resistent erwiesen. Da nach diesem Strukturbild die fibrillären Bestandteile der elastischen Fasern auch nach enzymatischer Entfernung der Grundsubstanz in ihrer Kontinuität erhalten bleiben, so scheint in der Erhaltung der Strukturellen Stabilität der Grundsubstanz keine Rolle zuzukommen.

Die elektronenmikroskopischen Beobachtungen von Lansing, Rosenthal und Dempsey (1952), die feststellten, dass nach Elastasewirkung an durch Methanolextraktion und 0,1 M NaOH-Hydrolyse hergestellten gereinigten «Elastin»-Präparaten nicht nur die interfibrilläre Matrixsubstanz, sondern auch die fibrillären Komponenten aufgelöst werden, stehen im Gegensatz zu den, die chemisch-strukturelle Organisation der elastischen Fasern betreffenden Befunden und Ausführungen von Schwarz und Dettmer. Die erstgenannten Autoren nahmen also an, dass die zwei Komponenten: Matrix und fibrilläre Bestandteile im Elastin chemisch nahe verwandt, oder identisch sind und sich nur in ihrer molekulären Orientierung unterscheiden. Ein ähnliches Schema der chemisch-strukturellen Organisation der elastischen Fasern wurde auf Grund chemischer Untersuchungen des enzymatischen Abbauvorganges an gereinigtem Elastinpräparaten von Hall, Reed und Tunbridge (1952) unter der Annahme vorgeschlagen, dass die Polysaccharid-Schwefelsäure-Komplexe nicht nur als interfibrillär gelagerte Matrixsubstanz vorhanden sind, sondern auch in die fibrilläre Proteinstruktur mit eingebaut sind, also in dem Polymerisationsprozess der Fibrillenbildung und in der Stabilisierung der Grundstruktur der elastischen Substanz eine wesentliche Rolle spielen. Elastase ist kein proteolytisches Ferment (Banga) und wird von Hall und Mitarbeitern als Mucasa bezeichnet, welches Enzym Protein-Polysaccharidverbindungen spaltet und nicht nur zum enzymatischen Abbau der interfibrillären Grundsubstanz, sondern gleichzeitig zum Kollaps der Grundstruktur der elastischen Substanz führt.

Bezüglich der Innenstruktur der elastischen Fasern besteht also ein grundlegender Unterschied zwischen den Auffassungen von Schwarz und Dettmer einerseits, und jenen von Lansing und Mitarbeitern, sowie Hall und Mitarbeitern andererseits. Banga versuchte diese Widersprüche auf Grund eigener neuerer Befunde über das merkwürdige Verhalten von thermal kontrahierten kollagenen Fasern dem enzymatischen Abbau gegenüber, zu erklären. Banga (1953) machte die Beobachtung, dass thermal kontrahierte kollagene Fasern durch Elastase rasch und restlos aufgelöst werden, wogegen unkontrahierte Fasern sich gegen Elastasewirkung völlig resistent erweisen und wies darauf hin, dass hierdurch die erwähnten Widersprüche erklärt werden könnten: die kollagenen fibrillären Komponenten der elastischen Fasern müssten sich nämlich bei Elastasewirkung, je nachdem es sich um thermal kontrahiertes oder nicht kontrahiertes Material handelt, verschiedentlich verhalten. Mit dieser Annahme scheint es zu übereinstimmen, dass Schwarz und Dettmer in ihrem nicht hitzbehandelten Material elastaseresistente Fibrillen beobachteten, während Lansing und Mitarbeiter, sowie Hall und Mitarbeiter an gereinigten Elastinpräparaten, bei welchen durch das übliche Präparationsverfahren thermale Kontraktion der fibrillären Komponenten der elastischen Substanz zu erwarten ist, die Auflösung der fibrillären Elemente feststellten. Gegen diese Erklärung von Banga hegen Hall, Tunbridge und Wood (1953) Bedenken und weisen darauf hin, dass Schwarz und Dettmer zwecks der Entfernung kollagener Fasern aus ihrem Untersuchungsmaterial keine entsprechenden Massnahmen trafen, obwohl dies für die Beurteilung dieser Frage bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen notwendig gewesen wäre, ferner, dass diese Autoren ihre enzymatischen Untersuchungen nicht

bei optimalen pH-Verhältnissen durchführten. Jedenfalls halten *Hall* und Mitarbeiter die Beobachtung von *Banga* über die enzymatische Auflösung von thermal kontrahierten kollagenen Fasern für einen wichtigen Umstand, welcher bei der weiteren Strukturforschung der elastischen Fasern besondere Beachtung erfordert.

Die enzymchemischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen brachten also eine weitgehende Aufklärung über die innere Struktur der elastischen Fasern. Ein gewisser, bisher unaufgeklärter Gegensatz scheint jedoch zwischen den elektronenmikroskopisch nachgewiesenen fibrillären Innenstruktur der elastischen Fasern und ihrem polarisationsoptischen Verhalten zu bestehen. Es ist nämlich auffällig, dass sich die elastischen Fasern, trotz ihrer fibrillären Innenstruktur, im ungedehnten Zustande optisch meist isotrop verhalten, oder nur ganz schwache positive Doppelbrechung aufweisen (*Schmidt*). Beim Vorhandensein einer fibrillären Innenstruktur könnte dieses Verhalten theoretisch zwar durch das Fehlen von Brechungsunterschieden zwischen fibrillärer Komponente und interfibrillärer Substanz erklärt werden. In diesem Fall dürfte dann auch vom Inhibitionsverfahren, das sich für die Aufklärung vieler komplexen Strukturen besonders geeignet erwies, kein wesentlicher Erfolg erwartet werden. Der auffällig hohe Brechungsindex der elastischen Fasern (1,534) lässt bei der polarisationsoptischen Untersuchung allerdings daran denken, dass bei der weitgehenden Maskierung der fibrillären Innenstruktur der elastischen Fasern solche Faktoren mit im Spiel sein können. Jedenfalls steht es fest, dass sich die elastischen Fasern als nicht besonders geeignete Objekte für die polarisationsoptische Strukturanalyse erwiesen und daher die polarisationsmikroskopischen Untersuchungen bisher nicht wesentlich zur Aufklärung der feineren Struktur der elastischen Fasern beitragen konnten.

Die eigenen polarisationsmikroskopischen Untersuchungen über die submikroskopische Struktur der elastischen Fasern gingen von der Beobachtung aus, dass die elastischen Fasern nach Anilinbehandlung eine intensive negative Doppelbrechung zeigen. Diese Reaktion erwies sich als weitgehend charakteristisch für die elastischen Fasern, deutete gleichzeitig auf eine spezifische Innenstruktur derselben und gewährte, in Verbindung mit enzymatischen Versuchen, tieferen Einblick in ihre feinere Struktur.

Material und Methode

Es wurde in Formol fixiertes menschliches Material (Aorta, Carotis, Subclavia, Iliaca) aus verschiedenen Lebensaltern untersucht. Die Untersuchungen wurden überwiegend an Paraffinschnitten durchgeführt, vergleichsweise fanden jedoch auch Gefrierschnitte aus formolfixiertem Material Verwendung. Zur Sicherung der gleichmässigen Reaktionsbedingungen wurden sowohl die Anilinreaktion, wie auch die Elastasebehandlung an unaufgezogenen Schnitten ausgeführt. Hierzu wurden Paraffinschnitte in Xylol aufgefangen und durch Alkoholreihe in Wasser gebracht.

Anilinreaktion. — Die Schnitte wurden aus dem Wasser auf Objektträger aufgezogen, mit Filtrierpapier abgetrocknet und nach Alkoholbehandlung mit Terpeneol aufgeklärt und in

Terpineol-Anilin-Mischungen mit steigender Anilinkonzentration (von 10% bis 80%igem Anilingehalt), bzw. in reinem Anilin eingeschlossen. Für Dauerpräparate wurden die Schnitte mit entsprechendem Anilingehalt in Canadabalsam eingeschlossen. In den auf diese Weise hergestellten Präparaten zeigten die elastischen Fasern eine prompte Reaktion. Wenn die Paraffinschnitte in der üblichen Weise auf Objektträger aufgezogen und getrocknet waren, wurden sie nach Deparaffinierung in Xylol mit Xylol-Anilinnmischungen behandelt und mit verschiedenem Anilingehalt in Canadabalsam eingeschlossen. Bei diesem Verfahren ging die Reaktion der elastischen Fasern langsamer vor sich und erforderte eine im allgemeinen ungefähr einstündige Behandlung mit den Xylol-Anilinnmischungen.

Die *Phenolreaktion* wurde mit steigenden Konzentrationen von Phenol in Xylol durchgeführt.

Elastasebehandlung. — Es wurde aus Kalbspancreas nach *Banga* hergestelltes Präparat in 250- und 500 facher Endverdünnungen in sekundärer Phosphatlösung verwendet.* Nach verschiedener Einwirkungsdauer der Enzymlösung bei 37° C wurden die Schnitte nach Auswaschen in der beschriebenen Weise entweder mit Anilin, bzw. Phenol behandelt, oder mit Resorzinfuchsin oder Orezin gefärbt.

Die Anilinreaktion der elastischen Fasern und ihre strukturelle Erklärung

Die elastischen Fasern zeigen bei Anilinreaktion eine auf ihre Länge bezogene intensive negative Doppelbrechung. In Abb. 1 sieht man das, den positiven (dunklen) glatten Muskelfasern der Media entgegengesetzte optische Verhalten der negativen (hellen) elastischen Fasern. Untersucht man die Präparate in steigenden Anilinkonzentrationen (Abb. 2), so bemerkt man schon bei 20%igem Anilingehalt die schwach negativ doppelbrechenden elastischen Fasern, deren Anisotropie sich bei höheren Konzentrationen immer mehr steigert. Im Gegensatz zu den elastischen Fasern behalten die glatten Muskelfasern auch in reinem Anilin ihre positive Doppelbrechung. Die kollagenen Fasern zeigen ein verschiedentliches Verhalten. Bei feineren Fasern sinkt die initiale positive Doppelbrechung bis zur Isotropie, die dickeren Fasern der Adventitia weisen auch in reinem Anilin meist noch eine schwache positive Doppelbrechung auf, nur Ausnahmsweise zeigen einige Fasern einen Umschlag in schwache negative Doppelbrechung. Das unterschiedliche Verhalten der kollagenen Fasern bei der Anilinreaktion wurde jedoch in diesen Untersuchungen systematisch nicht verfolgt. Aus Abb. 2, welche das optische Verhalten der elastischen und kollagenen Fasern bei steigenden Anilinkonzentrationen zeigt, ist zu ersehen, dass die elastischen Fasern eine viel grössere Affinität zur orientierten Assoziation von Anilinmolekülen zeigen, als die kollagenen Fasern.

Die Anilinreaktion weist also eine ziemlich weitgehende Spezifität für die elastischen Fasern auf. Der optische Effekt, d. h. die starke negative Doppelbrechung der elastischen Fasern bei Anilinbehandlung, deutet auf eine topochemische Reaktion und ist als die Folge einer orientierten Assoziation von

* Das von Prof. *Banga* freundlichst überreichte gereinigte Elastase-Präparat — wofür auch an dieser Stelle aufrichtiger Dank ausgesprochen sei — zeigte in der Konzentration 4 mg/ml dieselbe Wirkungsstärke, wie unser ungereinigtes Enzym-Präparat bei 250facher Endverdünnung.

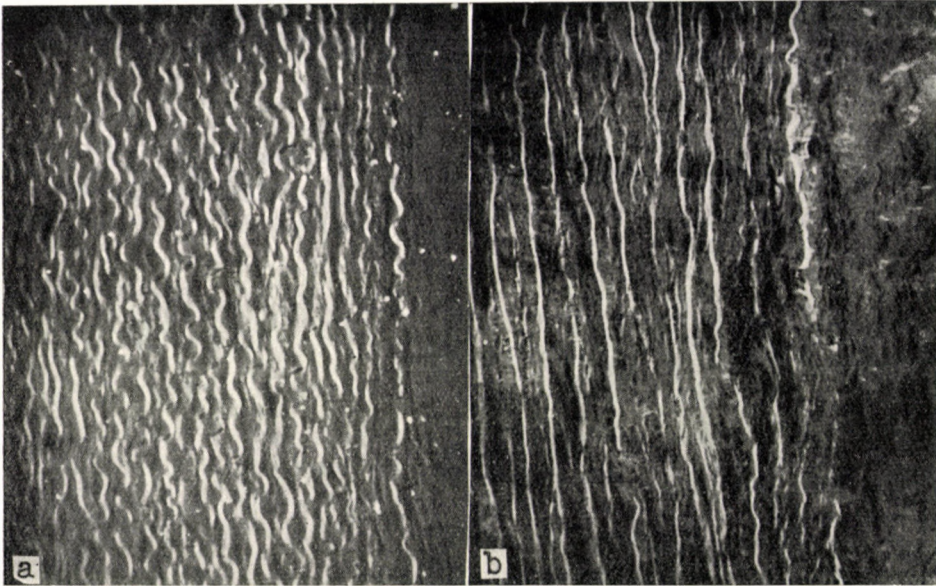


Abb. 1. Anilinreaktion der Aorta eines Neugeborenen (a) und einer 30jährigen Frau (b). Von den hellen negativ doppelbrechenden elastischen Fasern heben sich die positiv doppelbrechenden (schwarzen) Muskelfasern deutlich ab. Man beachte die starke Welligkeit der elastischen Fasern bei a, gegenüber dem abgeflachten Verlauf derselben in b

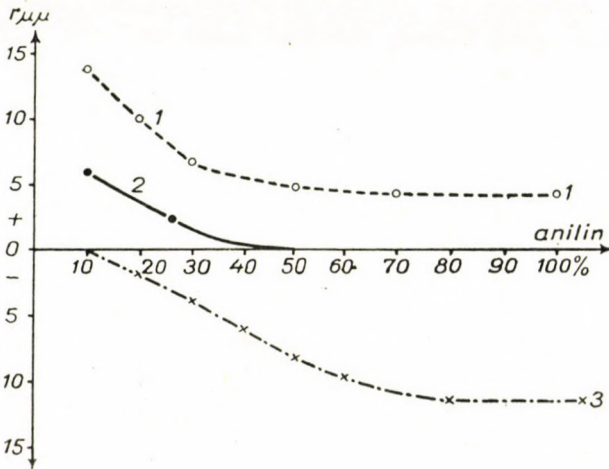


Abb. 2. Doppelbrechungskurve von elastischen und kollagenen Fasern bei steigenden Anilinkonzentrationen. — 1. Dickere kollagene Fasern der Adventitia. — 2. Feinere kollagene Fasern der Intima. — 3. Elastische Fasern der Media

Anilinmolekülen auf orientierten Strukturbestandteilen in den elastischen Fasern anzusehen. Welche Strukturbestandteile der elastischen Fasern hierzu in Frage kommen, werden wir erst an Hand später noch zu besprechender Beobachtungen erläutern können. Zunächst können wir die orientierte Anlagerung der Anilinmoleküle auf orientierte Strukturbestandteile der elastischen Fasern mit der Phenolreaktion der kollagenen Fasern, von welcher angenommen wird, dass sich die Phenolmoleküle in Querschichten orientiert auf die Elementarfibrillen auflagern und so den Umschlag der Anisotropie der Fasern herbeiführen, vergleichen. Wahrscheinlich handelt es sich auch bei der Anilinreaktion der elastischen Fasern um eine ähnliche, also schichtweise orientierte Assoziation von Anilinmolekülen auf fibrilläre Strukturen, weshalb die eintretende negative Doppelbrechung als ein Zeichen von submikroskopischen fibrillären Strukturen in den elastischen Fasern angesehen werden darf.

Das Verhalten der Anilinreaktion nach Elastasebehandlung

Für die strukturelle Deutung der Anilinreaktion der elastischen Fasern waren die Beobachtungen nach Elastasewirkung von Bedeutung. Es zeigte sich, dass die Anilinreaktion der elastischen Fasern nach Enzymwirkung rasch schwächer wird und bald völlig verschwindet. Elastase zerstört also dieselbe submikroskopische Struktur der elastischen Fasern, welche zur orientierten Assoziation der Anilinmoleküle fähig ist. Da die Stärke der Anisotropie mit grosser Genauigkeit bestimmt werden kann, ergab sich die Möglichkeit, den Reaktionsablauf des fermentativen Strukturabbaues der elastischen Fasern quantitativ zu verfolgen. Die Möglichkeit der quantitativen Verfolgung des enzymatischen Strukturauflösungs-Prozesses der elastischen Fasern darf wohl als ein methodischer Vorteil angesehen werden. Bisher war dies nur mittels Elasticafärbung möglich, wobei aber die intermediären Phasen des Reaktionsablaufes quantitativ nicht erfasst werden konnten. Durch die quantitative Bestimmung der Anisotropie bei der Anilinreaktion wurde es möglich, genauere Beobachtungen über die enzymatische Verdaulichkeit der elastischen Fasern zu machen. Abb. 3 zeigt den Reaktionsablauf der enzymatischen Strukturauflösung der elastischen Fasern der Subclavia einer 54jährigen Frau. Abb. 4 wiedergibt denselben Reaktionsablauf in einer Bildserie, wo man nach 48 Minuten den völligen Schwund der anilinreagierenden elastischen Fasern sieht. Die positive Doppelbrechung der glatten Muskelfasern blieb dabei unverändert.

Aus den bisherigen Beobachtungen können wir auf folgende Strukturverhältnisse in den elastischen Fasern folgern:

Die elastischen Fasern enthalten submikroskopische, längsorientierte fibrilläre Strukturen, welche durch die orientierte Assoziationsfähigkeit von Anilin ausgezeichnet sind. Die strukturspezifische Assoziation von Anilin kann

bei polarisationsmikroskopischer Untersuchung durch die intensive negative Doppelbrechung der Fasern erkannt werden. Die Strukturspezifität der Anilinreaktion der elastischen Fasern ergibt sich aus der Beobachtung, dass diese

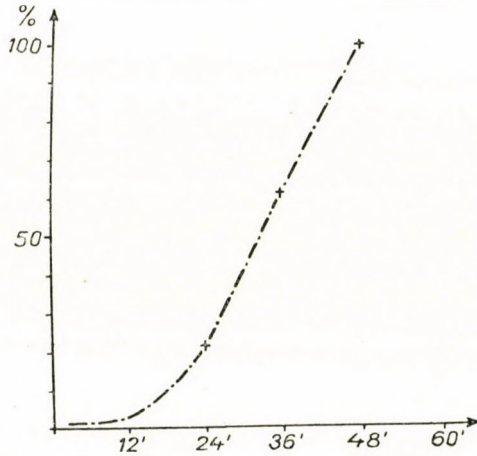


Abb. 3. Quantitativer Verlauf der Elastolyse der elastischen Fasern in der Subclavia einer 54-jährigen Frau. Die Kurve zeigt die prozentuale Abnahme der Doppelbrechungsstärke bei Anilinreaktion, bei welcher nach 48 Minuten völliger Schwund der Anisotropie der elastischen Fasern zu beobachten ist

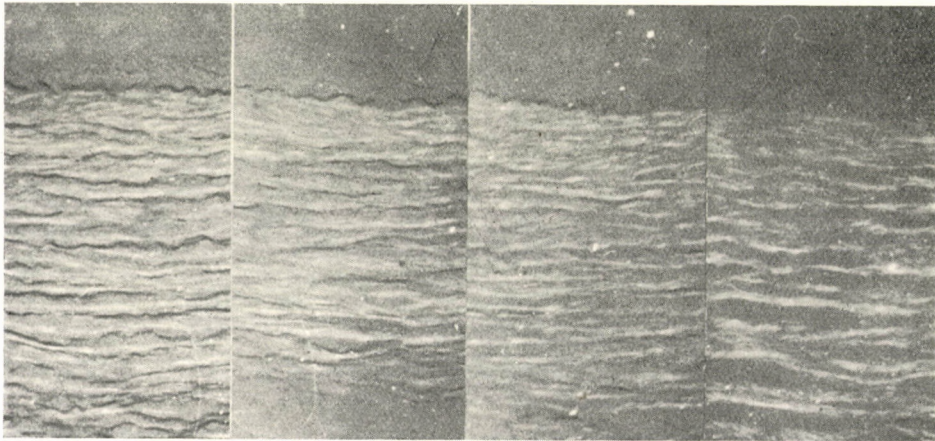


Abb. 4. Die Bildserie wiedergibt den in Abb. 3 dargestellten elastolytischen Prozess nach 12, 24, 36, bzw. 48 Minuten. Anilinreaktion. Allmähliche Abschwächung, bzw. völliger Schwund der auf Schwarz kompensierten negativen elastischen Fasern, schliesslich bleiben nur die positiv doppelbrechenden glatten Muskelfasern der Gefässwand sichtbar

Reaktion nach Elastasebehandlung verschwindet. Die Anilinreaktion ist also an jene Strukturbestandteile gebunden, welche durch Elastase abgebaut werden. Die Beantwortung der Frage, auf welche Strukturbestandteile eigentlich die

Anilinreaktion zu beziehen ist, hängt von der näheren Kenntnis der Elastasewirkung auf die elastischen Fasern ab. Wir sahen aber, dass die Frage, ob Elastase nur die Grundsubstanz, oder auch die fibrillären Komponenten mitverdaut, noch nicht als geklärt betrachtet werden darf. Wir werden später noch sehen, dass weitere polarisationsoptische Befunde eine Grundlage zur Beantwortung der Frage, auf welche Strukturbausteine die Anilinreaktion zu beziehen ist, liefern. Zunächst sei noch auf die Befunde, welche auf eine ganz spezifische Innenstruktur der elastischen Fasern deuten, näher eingegangen.

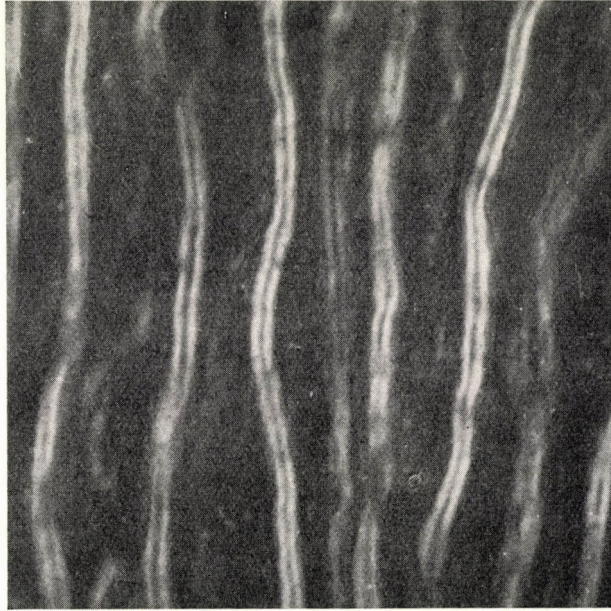


Abb. 5. Elastische Fasern eines Neugeborenen bei Anilinreaktion. Immersionsvergrößerung. In der Achsenmitte der negativ doppelbrechenden elastischen Fasern zeigt sich ein isotroper Kompensationsstreifen

Die spezifische Innenstruktur der elastischen Fasern

Bei weiteren Untersuchungen ergaben sich Befunde, die auf eine submikroskopische spirale Innenstruktur der elastischen Fasern hindeuten. In dieser Beziehung erwies sich ein an den elastischen Fasern der Neugeborenen und Kindern regelmässig erhobener Befund als wesentlich. Die bei der Anilinreaktion negativen elastischen Fasern zeigten einen zentralen, ihrer Längsachse entlang verlaufenden isotropen Streifen (Abb. 5). Dieses optische Verhalten war regelmässig an jeder Faser zu beobachten, konnte daher nicht mit irgendwelchen optischen Störungsfaktoren erklärt werden. Die schematische

Zeichnung (Abb. 6a) zeigt, dass der beobachtete zentrale Streifen keiner echten Isotropie entsprechen kann. Stellt man sich nämlich einen isotropen Streifen von der beobachteten relativen Breite in der Fasermitte vor, so sieht man, dass dieser bei der polarisationsmikroskopischen Untersuchung maskiert bleiben muss, da bei jeder Durchstrahlungsrichtung das polarisierte Licht noch zwei anisotrope Schichten an der vorderen und hinteren Faserhälfte durchdringen müsste. Der beobachtete zentrale isotrope Streifen entspricht also einer

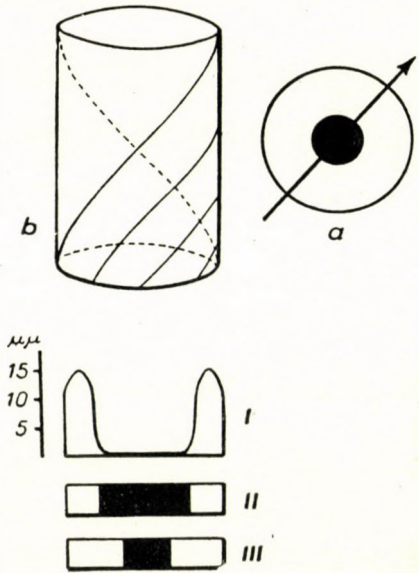


Abb. 6a. zeigt, dass sich in der Fasermitte ein zentraler isotroper Streifen, von der eingezeichneten relativen Breite als solcher polarisationsoptisch nicht darstellen lässt, da derselbe bei jeder Durchstrahlungsrichtung von zwei anisotropen Schichten überdeckt ist. — b Zylindrischer Körper mit spiralgem Faserverlauf, in der Achsenmitte rechtwinkelige, lateralwärts immer schiefere Überkreuzungen des Faserverlaufes der vorderen, bzw. hinteren Wand. — I. zeigt die optische Funktion eines derartigen Körpers, berechnet auf eine Schichtdicke von 1.000 Å. II. Das entsprechende polarisationsoptische Bild. — III. Das polarisationsoptische Bild der elastischen Faser bei Anilinreaktion

scheinbaren Isotropie, welche durch eine Überkreuzung anisotroper Strukturteile und gegenseitige Kompensation ihrer optischen Wirkung zustande kommt. Dieser Kompensationsstreifen spricht daher für eine Struktur mit schraubigem Verlauf submikroskopischer Fibrillen, wo, bei genügend scharfer Windungsstärke, die submikroskopischen Fibrillen in der Fasermitte sich quer überkreuzend ihre optische Effekte gegenseitig kompensieren und so den isotrop erscheinenden Kompensationsstreifen verursachen. An den lateralen Zonen der Faser, wo die Fibrillenüberkreuzungen immer mehr und mehr spitzwinklig

verlaufen, entsteht keine Kompensation mehr. Die lateralen Zonen der Faser erweisen sich daher als anisotrop.

Diese Strukturverhältnisse lassen sich an einer zylindrischen Röhre mit schraubigem Fibrillenverlauf deutlich veranschaulichen (Abb. 6b). Die optische Funktion dieses Modells (berechnet auf Grund des Überkreuzungswinkels der Fibrillen an der vorderen und hinteren Röhrenhälfte, bei einer Schichtdicke von 1000 Å.) ist im Wesen dem Polarisationsbilde der elastischen Fasern gleich, doch zeigt das Modell einen viel breiteren zentralen isotropen Kompensationsstreifen, als die elastischen Fasern. Auf Grund dieser wesentlichen Übereinstimmung des polarisationsoptischen Bildes der elastischen Fasern und der optischen Funktion des Modelles mit spiraligem Fibrillenverlauf darf angenommen werden, dass die elastischen Fasern eine spira-

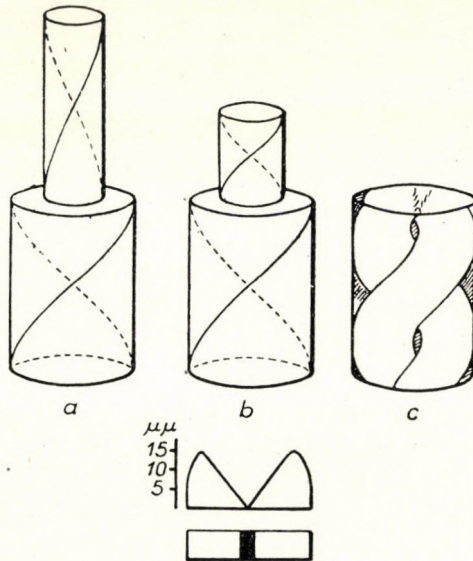


Abb. 7. Die drei möglichen Strukturtypen eines zylindrischen Körpers mit spiraligem Faserverlauf. Bei *a* erfolgt, bei gleicher Windungshöhe sämtlicher Faserschichten, die Überkreuzung in den tiefer gelegenen Schichten nicht mehr rechtwinkelig, weshalb bei diesem Typ kein zentraler Kompensationsstreifen entsteht. — *b*: Gleiche Windungsstärke in sämtlichen Schichten, jedoch abnehmende Windungshöhe der tiefer gelegenen Schichten. — *c*: Zylindrischer Körper, welcher aus zwei umeinander gewundenen Faserbündeln besteht und sich durch gleiche Windungshöhe und Windungsstärke sämtlicher Fibrillen kennzeichnet

lige submikroskopische Innenstruktur besitzen. Der Unterschied zwischen dem Bilde der elastischen Fasern und der optischen Funktion des Modelles deutet aber darauf hin, dass die spiralförmige Struktur in den elastischen Fasern nicht nur auf eine oberflächliche Schicht der Fasern beschränkt ist, sondern wahrscheinlich in irgendeiner Weise die ganze Faserdicke durchdringt. Modellmässig sind hierzu drei Strukturtypen eines zylindrischen Körpers mit schraubigem Fibrillenverlauf denkbar (Abb. 7): *a*) der erste, charakterisiert durch gleiche Windungshöhe, aber ungleiche (in den tiefer gelegenen Schichten immer mehr abnehmende) Windungsstärke des Fibrillenverlaufes; *b*) der zweite, charakterisiert durch ungleiche Windungshöhe, aber gleiche Windungsstärke des Fibrillenverlaufes; *c*) der dritte, ein zylindrischer Körper, mit zwei umeinander gewundenen Fibrillenbündeln, also charakterisiert durch gleiche Windungshöhe und gleiche Windungsstärke aller Fibrillen.

Modell *a*) fällt fort, da eine derartige Struktur keinen zentralen Kompensationsstreifen aufweist. Die Fibrillenüberkreuzungen an den tiefer gelegenen Schichten verlaufen nämlich

nicht rechteckig, sondern immer schiefer, was eine gegenseitige Kompensation ihrer Anisotropie nicht mehr zulässt. Im Modell *b*) ist die optische Funktion für jede Schicht im wesentlichen dieselbe, wie bei Modell *a*). Wenn man die Funktionen der einzelnen Schichten summiert, erhält man für den zylindrischen Körper das unter dem Modell eingezeichnete Resultat. Der zentrale Kompensationsstreifen ist jedoch, im Verhältnis zum Durchmesser des zylindrischen Körpers, sehr schmal. Die relative Breite des pseudoisotropen Kompensationsstreifens der elastischen Fasern ist grösser und liegt zwischen den optischen Funktionen von den Modellen *6b*) und *7b*). Die dritte in Betracht zu ziehende Struktur wäre der zylindrische Körper *7c*) mit den zwei umeinander gewundenen Fibrillenbündeln. Diese Struktur ist deshalb beachtenswert, weil sie die Struktureigenschaften von den Modellen *6b*) und *7b*) in sich vereinigt, nämlich bei allen Fibrillen die gleiche Windungshöhe (wie bei *6b*) und die gleiche Windungsstärke (wie bei *7b*)) aufweist. Wenn auch die optische Funktion dieser Struktur wegen des komplizierten Faserverlaufes nicht abgeleitet werden konnte, scheint es in Anbetracht der erwähnten intermediären strukturellen Eigenschaften doch sehr wahrscheinlich, dass auch ihre optische Funktion zwischen die der Modelle *6b*) und *7b*) fällt, somit also dem polarisationsoptischen Bilde der elastischen Fasern am nächsten kommt.

Auf Grund des Gesagten darf festgestellt werden, dass die elastischen Fasern eine schraubig-fibrilläre Innenstruktur besitzen, deren Windungsgrad bei jugendlichen Individuen solche Stärke erreicht, dass dadurch in der Fasermittelpunkt ein scheinbar isotroper Kompensationsstreifen entsteht. Die weitere Analyse führt zu der Annahme, dass die schraubig-fibrilläre Innenstruktur aller Wahrscheinlichkeit nach aus zwei umeinander gewundenen Fibrillenbündeln besteht.

Diese aus der Analyse der polarisationsoptischen Erscheinungen sich ergebende Folgerung über die submikroskopische Struktur der elastischen Fasern steht in bemerkenswerter Übereinstimmung mit der elektronenmikroskopischen Beobachtung von spiralig gewundenen Fibrillenbündeln in den elastischen Fasern. In den Abbildungen von *Schwarz* und *Dettmer* sieht man leicht umeinander gewundene Fibrillenbündel, auch *Lansig* und Mitarbeiter bringen ein ähnliches Bild und betonen dabei, dass diese schraubige Windung der Fibrillenbündel nicht die Folge des Präparationsverfahrens ist, sondern dass es sich hier um eine charakteristische Struktureigenschaft der elastischen Fasern handelt.

Die im wesentlichen gleichen Resultate der indirekten polarisationsoptischen und der direkten elektronenmikroskopischen Untersuchungsmethoden stützen sich gegenseitig. Die schraubig-fibrilläre Innenstruktur der elastischen Fasern darf als eine reale und charakteristische Struktureigenschaft derselben betrachtet werden. Wir möchten jedoch an dieser Stelle darauf hinweisen, dass die polarisationsoptische Analyse in dieser Beziehung tieferen Einblick in die Strukturverhältnisse der elastischen Fasern gewährt, als die elektronenmikroskopische Untersuchung. Denn der zentrale Kompensationsstreifen, der bei der Anilinreaktion regelmässig zu beobachten ist, kann nur dann entstehen, wenn die Windung der fibrillären Strukturen von solcher Stärke ist, dass sich diese in der optischen Fasermittelpunkt rechtwinkelig überkreuzen anderenfalls kann ein solcher Kompensationsstreifen nicht mehr entstehen. Im letzteren Falle, also bei schiefer Überkreuzung des Fibrillenverlaufes in der optischen

Fasermite, muss die elastische Faser schon in ihrer ganzen Dicke Anisotropie aufweisen, wie das an den elastischen Fasern bei Erwachsenen regelmässig zu beobachten ist. Der Befund, dass der zentrale Kompensationsstreifen an den elastischen Fasern von Neugeborenen und Jugendlichen regelmässig, bei Erwachsenen aber nicht mehr zu beobachten ist, kann durch die allmähliche Abflachung der schraubigen Windung der submikroskopischen fibrillären Struktur der elastischen Fasern erklärt werden.

Die komplexe Gesamtstruktur der elastischen Fasern

Die Analyse der negativen Doppelbrechung der elastischen Fasern nach Anilinbehandlung weist also auf eine spirallige fibrilläre Innenstruktur hin.

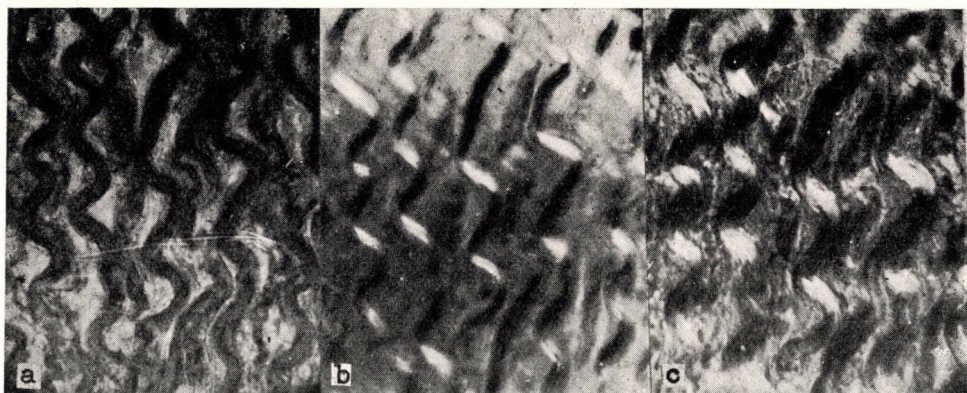


Abb. 8. Dieselben elastischen Fasern bei (a) Elasticafärbung, (b) Anilinreaktion, (c) Phenolreaktion

Die negative Doppelbrechung ist die Folge von orientierter Assoziation von Anilinmolekülen an eine fibrillär orientierte submikroskopische Struktur der Faser. Nun erhebt sich die Frage, an welche Strukturbestandteile der elastischen Fasern diese orientierte Assoziation stattfindet. Wir fanden zwar, dass diese anilinreagierenden Strukturbestandteile durch Elastase zerstört werden, aber die aufgeworfene Frage kann doch nicht entschieden werden, denn was wird durch Elastase gelöst? Wird tatsächlich nur die elektronenmikroskopische homogene Grundsubstanz gelöst, wie das Schwarz und Dettmer behaupten, oder werden auch die fibrillären Komponenten mitverdaut, wie das Lansing und Mitarbeiter und auch Hall und Mitarbeiter angeben. Auf diese Weise kann es also nicht entschieden werden, ob Anilin mit den fibrillären Bestandteilen der elastischen Fasern, oder mit ihrer Grundsubstanz reagiert.

Die Beantwortung dieser Frage und die Klärung der komplexen Gesamtstruktur der elastischen Fasern ermöglichten aber weitere Beobachtungen, besonders durch den Vergleich der Anilinreaktion, Elasticafärbung und Phenolreaktion an derselben Faser. Abb. 8 zeigt dieselbe Stelle bei Elasticafärbung, Anilin-, und Phenolreaktion, welche nacheinander durchgeführt und bei derselben Vergrößerung photographiert wurden. Die schematische Abb. 9 zeigt die auf Grund dieser Beobachtung denkbaren Strukturverhältnisse.

An dieser Bildserie fällt es zunächst auf, dass sich die negativ doppelbrechenden elastischen Fasern bei Phenolreaktion viel breiter zeigen, als bei

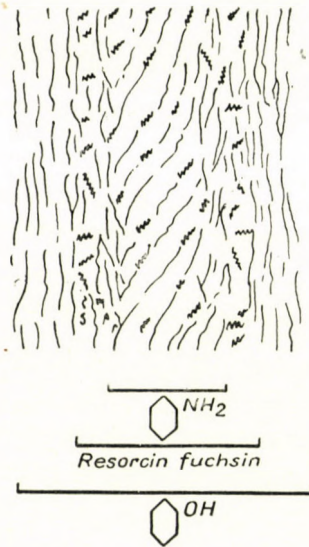


Abb. 9. Schematische Darstellung der möglichen Strukturverhältnisse der elastischen Faser auf Grund des verschiedentlichen Verhaltens der Fasern bei Elasticafärbung, Anilin-, bzw. Phenolreaktion (s. Abb. 7)

Elasticafärbung, andererseits ergibt die Anilinreaktion schmalere Fasern, als die Elasticafärbung. Die negative Doppelbrechung bei der Phenolreaktion ist für kollagene und präkollagene Fibrillen charakteristisch. Das gleichmässige Durchreagieren der elastischen Fasern bei der Phenolreaktion zeigt also, dass die Faser aus einem längsorientierten mesenchymalen Fibrillensystem besteht. Die phenolreagierende Faser ist aber viel breiter, als die durch Elasticafärbung darstellbare Faser. Man kann wohl diese breiteren, phenolreagierenden Fasern als die eigentliche morphologisch-funktionelle Einheit betrachten. In diesen Fasern grenzt sich die durch Elasticafärbung darstellbare elastische Faser in histologischem Sinne ab. Weiterhin sehen wir, dass die Anilinreaktion nicht die ganze färbbare Faserdicke erfasst. Es reagiert nur ein zentraler schmalerer

Streifen der Faser. Nach der Anilinreaktion beurteilt, besteht also die färbare elastische Faser aus zwei Zonen: 1. aus einer zentralen, hochstrukturierten Zone mit schraubig fibrillärer Orientation, und 2. aus einer bei Anilinreaktion amorph-isotropen peripheren Zone.

Aus dem Vergleich der Anilin- und Phenolreaktion ist klar zu ersehen, dass Phenol und Anilin an verschiedene Strukturbestandteile der elastischen Faser assoziieren. Anilin reagiert also nicht mit den mesenchymalen Fibrillen, wie dies für Phenol charakteristisch ist. Wenn aber bei der Anilinreaktion die kollagenen, bzw. präkollagenen Fibrillen nicht in Frage kommen, dann kann für dieselbe nur die Grundsubstanz verantwortlich sein. Da aber die Anilinreaktion auf eine schraubig-fibrilläre Orientation in der elastischen Faser hindeutet, so muss die Folgerung gezogen werden, dass auch die spezifische Grundsubstanz in der zentralen Zone der elastischen Faser orientiert (interfibrillär oder intrafibrillär) eingelagert ist.

Die strukturelle Stabilität der elastischen Fasern

Die nähere Analyse der polarisationsoptischen Effekte bei der Anilin- und Phenolreaktion deutet also auf ein komplexes Strukturbild in den elastischen Fasern. Die isoliert phenol-, bzw. anilinreagierenden Strukturbestandteile sprechen für das Vorhandensein eines Zweikomponentensystems, bestehend aus phenolreagierenden mesenchymalen Fibrillen und aus einer anilinreagierenden, ebenfalls orientierten Grundsubstanz. Nun erhebt sich die, für die chemisch-strukturelle Organisation der elastischen Faser wichtige Frage, in welcher strukturellen Beziehung die beiden Strukturbestandteile zu einander stehen. Diese Frage harret jedoch noch der Beantwortung, nachdem in dieser Beziehung auch die elektronenmikroskopischen Befunde einander widersprechen. Wie schon erwähnt, fanden *Schwarz* und *Dettmer* in den elastischen Fasern der menschlichen Aorta elastaseresistente Fibrillen. Dagegen stellten *Lansing* und Mitarbeiter fest, dass Elastase nicht nur die Grundsubstanz, sondern auch die fibrillären Komponenten auflöst, also zum Untergang der gesamten Struktur führt.

Wenn die mesenchymalen (phenolreagierenden) Fibrillensysteme in ihrer strukturellen Kontinuität von der Grundsubstanz weitgehend unabhängig wären, wie das *Schwarz* und *Dettmer* behaupten, so dürften nach Elastasebehandlung bei der Phenolreaktion an den elastischen Fasern keine nennenswerten Veränderungen beobachtet werden. Anderenfalls müsste bei der Phenolreaktion auch das typische polarisationsoptische Bild der elastischen Fasern verschwinden, wie dies hinsichtlich der Anilinreaktion nachzuweisen ist. In Abb. 10 sieht man, dass nach Elastasebehandlung die typischen Phenolstrukturen der elastischen Fasern der Aortenmedia fast durchwegs verschwunden

sind und sich nur vereinzelte Reste von zusammengefallenen, noch schwache Phenolreaktion aufweisenden elastischen Fasern finden. Wir sehen also, dass die Elastase (an formolfixiertem Material, wo keine Hitzecontraktion der kollagenen Fibrillen in Betracht kommt) nicht nur die anilinreagierende Grundsubstanz, sondern auch die phenolreagierenden fibrillären Bestandteile der elastischen Fasern zerstört, somit den Untergang der Gesamtstruktur herbeiführt. Diese Beobachtung spricht für die von *Hall* und Mitarbeitern, und *Lansing* und Mitarbeitern vertretene Auffassung über die chemisch-strukturelle Organisation der elastischen Fasern, wonach die Molekülkomplexe der Grundsubstanz in die Proteinfibrillen orientiert mit eingebaut sind und somit in der strukturellen Stabilität eine bedeutende Rolle spielen.

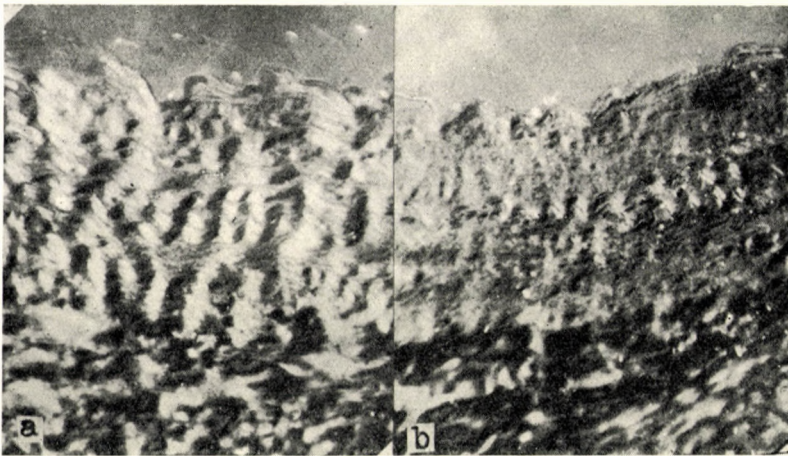


Abb. 10. Phenolreaktion der Aortenwand eines Neugeborenen. a: Dicke, wellig verlaufende, negativ doppelbrechende elastische Fasern. b: Nach 3stündiger Elastasebehandlung. Es finden sich nur vereinzelte Reste von kollabierten, schwache Phenolreaktion aufweisenden elastischen Fasern

Funktionelle Beziehungen

Es sei noch kurz auf die funktionellen Beziehungen der submikroskopischen Struktur der elastischen Fasern eingegangen. Über die elastische Eigenschaft der elastischen Fasern bestehen zwei, auf physikalischer Untersuchung des Elastizitätsmoduls und Dehnungswiderstandes der elastischen Substanz beruhende Vorstellungen. *Ranke* entwickelte die Theorie, dass die elastische Substanz auf Grund ihrer physikalischen Eigenschaften nicht mit Gummi, sondern mit der Biegeelastizität der spiraligen Stahlfeder verglichen werden kann. Auf Grund mikromanipulatorischer Dehnungsuntersuchungen an iso-

lierten elastischen Fasern des Nackenbandes, weist *Redenz* diese Auffassung zurück und tritt für die grosse elastische Vollkommenheit mit einem kleinen Elastizitätsmodul der elastischen Fasern ein. Neuerdings hat sich *Petry* mit Dehnungsversuchen an elastischen Fasern beschäftigt und bei denselben, wenn sie keine Wellung mehr aufwiesen, eine hohe Dehnbarkeit festgestellt. Überhaupt sei nach *Petry* die Welligkeit der elastischen Fasern ein Kunstprodukt, das infolge von Schrumpfung kollagener Fasersysteme bei der Einbettung, und Kontraktion der glatten Muskelsysteme der Arterienwände zustande kommt. Elastische Fasern sollen nach der Meinung dieses Autors innerhalb der Grenzen der physiologischen Funktionsbreite keine Welligkeit aufweisen. Hinsichtlich dieser Auffassung von *Petry* ist es allerdings auffällig, dass die Welligkeit der elastischen Fasern bei Neugeborenen und Kleinkindern ausgeprägter ist als bei Erwachsenen, obwohl beim Erwachsenen sowohl kollagene Fasersysteme, als glatte Muskelfasern auch mengenmässig die elastischen Fasersysteme weit übertreffen (Abb. 1). Dies scheint vielmehr darauf hinzuweisen, dass der wellige Faserverlauf nicht von anderen Fasersystemen auf die elastischen Fasern aufgezwungene, sondern eine primäre, mit der physikalischen Beschaffenheit der elastischen Fasern zusammenhängende Form darstellt. Wenn man die stark schraubig-fibrilläre Innenstruktur der elastischen Fasern, wie sie von der polarisationsoptischen Untersuchung besonders bei Jugendlichen gezeigt wird, in Betracht zieht und mit ähnlich strukturierten makroskopischen Systemen vergleicht, so fühlt man sich zur Annahme gedrängt, dass diese Struktur für die physikalischen Eigenschaften der Fasern von Bedeutung ist. Denn man sieht auch bei der Umeinanderwindung von Faserbündeln, dass bei einem gewissen Grad der Windung eine wellige Form, welche Biegungselastizität besitzt, entsteht. Wir halten es für wahrscheinlich, dass die stark gewundene fibrilläre Innenstruktur in der elastischen Konstruktion der Fasern eine Rolle spielt. Mit dieser Annahme könnte auch erklärt werden, dass die ausgeprägteste Welligkeit die elastischen Fasern der Gefässe von Jugendlichen aufweisen, nachdem in denselben, wie das der regelmässig nachweisbare Kompensationsstreifen zeigt, die Windung der submikroskopischen Fibrillen am stärksten ist, während bei den sich abflachenden elastischen Fasern der Erwachsenen das Fehlen des Kompensationsstreifens auf eine Abflachung der spiraligen Innenstruktur hindeutet. Die Annahme, dass die physikalische Eigenschaft der Elastizität teils von dieser gewundenen Innenstruktur abhängt und somit einer federnden Biegungselastizität entspräche, schliesst die Rolle einer echten Dehnungselastizität nicht aus; es scheint möglich zu sein, dass beide Elastizitätsfaktoren (ein struktur- und ein substanzbedingter) in der elastischen Faser vereinigt sind, oder wechselnd vorherrschen und somit die Lösung dieser Frage weder ausschliesslich in der Richtung der von *Ranke*, noch in der von *Redenz* vertretenen Vorstellung, sondern in der Synthese dieser beiden Anschauungen zu suchen ist.

Zusammenfassung

Die elastischen Fasern der menschlichen Gefäße zeigen bei Anilinbehandlung eine intensive negative Doppelbrechung, was auf eine längsfibrilläre Innenstruktur derselben hindeutet. Der zentrale (pseudoisotrope) Kompensationsstreifen der anilinbehandelten elastischen Fasern von Neugeborenen und Jugendlichen spricht für eine spiralig gewundene submikroskopische fibrilläre Struktur. Weiterhin sprechen die polarisationsoptischen Befunde bei der Phenol- und Anilinreaktion für eine komplexe Innenstruktur der elastischen Fasern. Auf Grund dieser, sowie auch fermentativer Untersuchungen wird der Schluss gezogen, dass Anilin an jene Molekülkomplexe der spezifischen Grundsubstanz assoziiert, welche in die Fibrillensysteme der Faser miteingebaut sind und so in der Stabilisierung der Gesamtstruktur eine wesentliche Rolle spielen. Es wird die funktionelle Beziehung dieser submikroskopischen Struktur erörtert.

LITERATUR

1. **Baló und Banga:** (1949) Die Zerstörung der elastischen Fasern der Gefäßwand. Schweiz Z. Path. Bact. 12, 350. — 2. **Baló und Banga:** (1950) The Elastolytic Activity of Pancreatic Extracts. Biochem. Journ. 46, 384. — 3. **Baló, Banga, Schuler:** (1954) Vergleichende Untersuchungen über die Elastolyse der Gefäßwand und des Ligamentum nuchae in histologischen Schnitten. Acta Morph. Hung. 4, 141. — 4. **Banga:** (1952) Isolation and Crystallization of Elastase from the Pancreas of Cattle. Acta Phys. 3, 317. — 5. **Banga:** (1953) Thermal Contraction of Collagen and its Dissolution with Elastase. Nature 172, 1099. — 6. **Dempsey, E. W.:** (1952) Chemical Characterization and Submicroscopic Structure of Elastic Tissue. Science 116, 520. — 7. **Dempsey, Russel, Lucas, Lansing:** (1952) Characterization of the Reaction between Orcein and the Elastic Fibres of the Ligamentum in the Horse. Anat. Rec. 113, 197. — 8. **Gross:** (1949) The Structure of Elastic Tissue as Studied with the Electronmicroscope. J. Exp. Med. 89, 699. — 9. **Gross und Schmitt:** (1948) The Structure of Human Skin Collagen as Studied with the Electronmicroscope. J. Exp. Med. 88, 555. — 10. **Guba und Banga:** (1954) Electronmicroscopic Examination of Elastin. Acta Morph. Hung. 4, 123. — 11. **Hall, Reed und Tunbridge:** (1952) Structure of Elastic Tissue. Nature. 170, 264. — 12. **Hall, Tunbridge und Wood:** (1953) Nature, 172, 1100. — 13. **Lansing, Rosenthal, Dempsey:** (1952) The Structure and Chemical Characterization of Elastic Fibres as Revealed by Elastase and by Electronmicroscopy. Anat. Rec. 114, 555. — 14. **Petry:** (1952) Die Dehnbarkeit der unfixierten und fixierten elastischen Fasern. Z. Zellforsch. mikr. Anat. 36, — 15. **Ranke:** (1925) Zur Frage der elastischen Systeme, besonders der Aortenwand. Beitr. path. Anat. 73, 638. — 16. **Redenz:** (1927) Untersuchungen über die elastische Faser. Untersuchungen der isolierten elastischen Faser des Nackenbandes mit Micromanipulator. Beitr. path. Anat. 76, 226. — 17. **Schwarz:** (1954) Electronenmikroskopische Untersuchungen der Altersveränderungen in der Media der menschlichen Aorta. Virch. Arch. 324, 612. — 18. **Schwarz und Dettmer:** (1953) Electronenmikroskopische Untersuchungen des elastischen Gewebes in der Media der menschlichen Aorta. Virch. Arch. 323, 243. — 19. **Tunbridge, Tattersall, Hall.** 1952) The Fibrous Structure of Normal and Abnormal Human Skin. Clin. Science. 11, 316:

О СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ЭЛАСТИЧЕСКИХ ВОЛОКОН

ДЬ. РОМХАНЫ

Эластические волокна человеческих сосудов показывают при обработке анилином интенсивное отрицательное двойное преломление, что указывает на их продольно-фибрилярную внутреннюю структуру. Центральная (псевдоизотропная) компенсационная полоса обработанных анилином эластических волокон новорожденных и детей в юношеском возрасте говорит за спирально извилистую субмикроскопическую фибриллярную структуру. Результаты исследований поляризационным микроскопом при

феноловых и анилиновых реакциях указывают на комплексную внутреннюю структуру эластических волокон. На основании данных исследований, а также и исследований ферментами, автор приходит к тому заключению, что анилин ассоциируется к тем молекулярным комплексам специфического основного вещества, которые встроены в фибриллярные системы волокон, и, таким образом, играют важную роль в стабилизации общей структуры. Авторы излагают функциональные отношения этой субмикроскопической структуры.

Prof. György *Romhányi*, Pécs, Dischka Gy. u. 5, Ungarn.